

PCT/EP 99/07088

17.10.99

日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

REC'D 19 JAN 2000

WIPO PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日

Date of Application:

1998年 9月18日

出 願 番 号

Application Number:

平成10年特許願第283301号

出 願 人

Applicant(s):

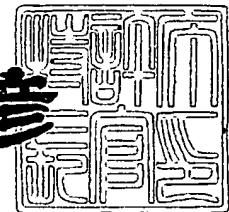
日本シエーリング株式会社  
富士写真フイルム株式会社

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

1999年 9月17日

特 許 庁 長 官  
Commissioner,  
Patent Office

近 藤 隆 彦



出証番号 出証特平11-3063989

【書類名】	特許願
【整理番号】	A3745
【提出日】	平成10年 9月18日
【あて先】	特許庁長官殿
【国際特許分類】	A61K 49/00 A61K 49/04 A61B 10/00
【発明の名称】	近赤外蛍光造影剤および蛍光造影方法
【請求項の数】	25
【発明者】	
【住所又は居所】	大阪府高槻市松が丘2-22-16
【氏名】	三輪 直人
【発明者】	
【住所又は居所】	大阪府箕面市箕面3丁目16番10-303号
【氏名】	稲垣 陸史
【発明者】	
【住所又は居所】	兵庫県川西市清和台西2丁目1-72
【氏名】	江口 博明
【発明者】	
【住所又は居所】	滋賀県大津市千野一丁目4-21
【氏名】	奥村 正文
【発明者】	
【住所又は居所】	神奈川県南足柄市中沼210番地富士写真フイルム株式 会社内
【氏名】	稲垣 由夫
【発明者】	
【住所又は居所】	神奈川県南足柄市中沼210番地富士写真フイルム株式 会社内
【氏名】	原田 徹

【特許出願人】

【識別番号】 596048776

【氏名又は名称】 日本シエーリング株式会社

【特許出願人】

【識別番号】 000005201

【氏名又は名称】 富士写真フイルム株式会社

【代理人】

【識別番号】 100080791

【弁理士】

【氏名又は名称】 高島 一

【電話番号】 06-227-1156

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 006965

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

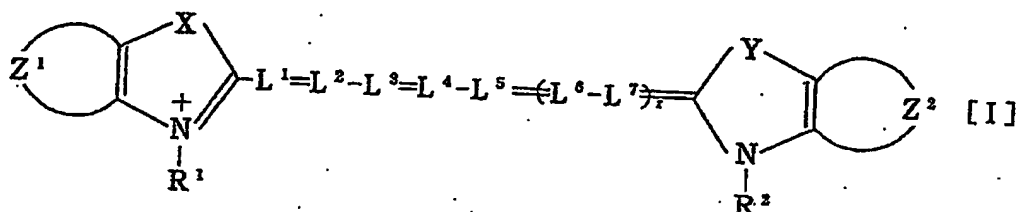
【書類名】 明細書

【発明の名称】 近赤外蛍光造影剤および蛍光造影方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式〔I〕

【化1】



〔式中、 $R^1$  および  $R^2$  は同一または異なって置換または無置換のアルキル基を表し、

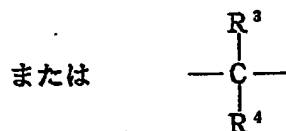
$Z^1$  および  $Z^2$  はそれぞれ置換または無置換のベンゾ縮合環あるいはナフト縮合環を形成するために必要な非金属原子群を表し、

$r$  は 0、1 または 2 を表し、

$L^1 \sim L^7$  ( $r$  が 2 の時は、重複する  $L^6$  と  $L^7$  は同一または異なる) は同一または異なって置換または無置換のメチン基を表し、

$X$  および  $Y$  は同一または異なって

【化2】



(式中、 $R^3$ 、 $R^4$  は同一または異なって置換または無置換のアルキル基を表す) で表され、且つスルホン酸基を分子内に 3 個以上有する化合物、またはその医薬上許容しうる塩を含んでなる近赤外蛍光造影剤。

【請求項2】 一般式〔I〕において  $r$  が 1 である請求項 1 記載の近赤外蛍光造影剤。

【請求項 3】 分子内のスルホン酸基の数が 4 個以上であることを特徴とする請求項 1 または 2 記載の近赤外蛍光造影剤。

【請求項 4】 分子内のスルホン酸基の数が 10 個以下であることを特徴とする請求項 1～3 のいずれかに記載の近赤外蛍光造影剤。

【請求項 5】 分子内のスルホン酸基の数が 8 個以下であることを特徴とする請求項 1～3 のいずれかに記載の近赤外蛍光造影剤。

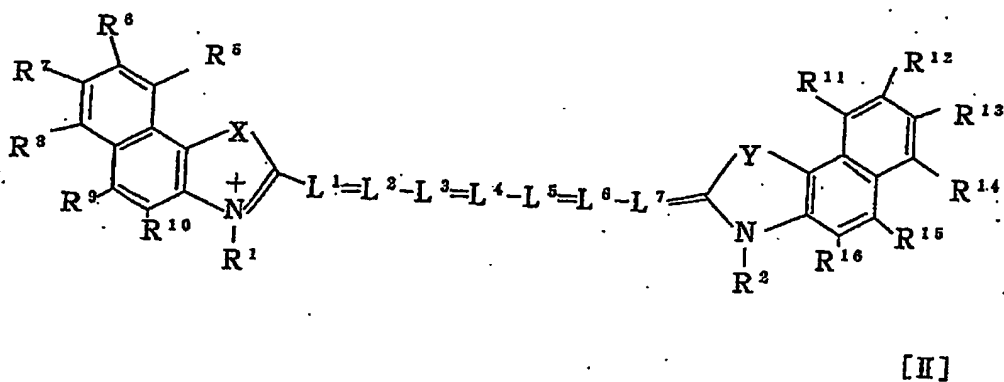
【請求項 6】 医薬上許容しうる塩がナトリウム塩である請求項 1～5 のいずれかに記載の近赤外蛍光造影剤。

【請求項 7】 腫瘍造影用である請求項 1～6 のいずれかに記載の近赤外蛍光造影剤。

【請求項 8】 血管造影用である請求項 1～6 のいずれかに記載の近赤外蛍光造影剤。

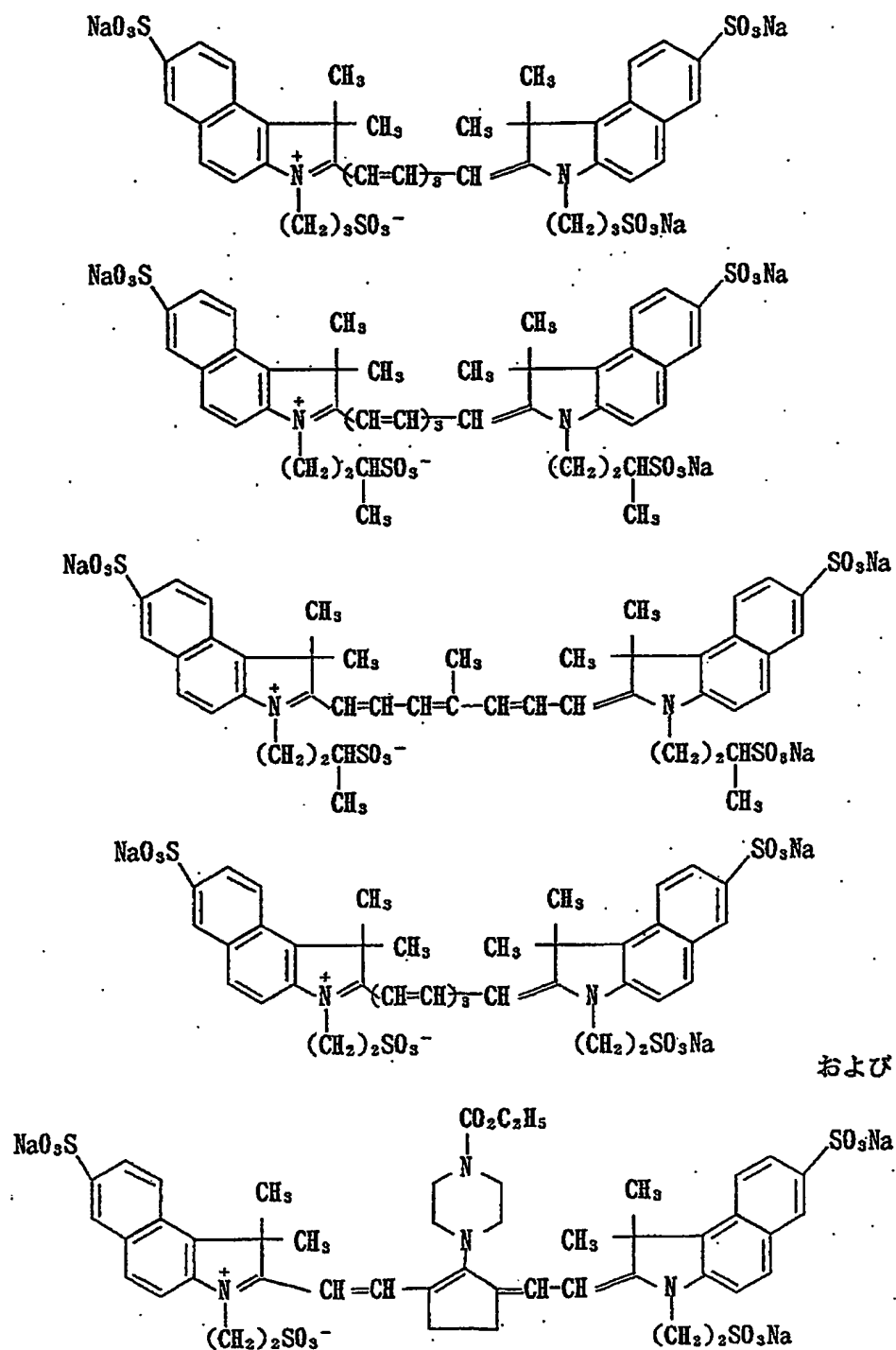
【請求項 9】 一般式〔I I〕

【化 3】



(式中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $L^1 \sim L^7$ 、X および Y は前述と同義であり、 $R^5 \sim R^{16}$  は同一または異なって水素原子、スルホン酸基、カルボキシル基、水酸基、アルキル(スルホアルキル)アミノ基、ビス(スルホアルキル)アミノ基、スルホアルコキシ基、(スルホアルキル)スルホニル基または(スルホアルキル)アミノスルホニル基を表す)で表され、且つスルホン酸基を分子内に 3 個以上有する化合物のナトリウム塩。但し、

【化 4】



および

を除く。

【請求項10】 一般式〔II〕において、  
R<sup>1</sup> およびR<sup>2</sup> がスルホン酸基で置換されている炭素数1～5の低級アルキル基であり、且つXおよびYが同一または異なっている。

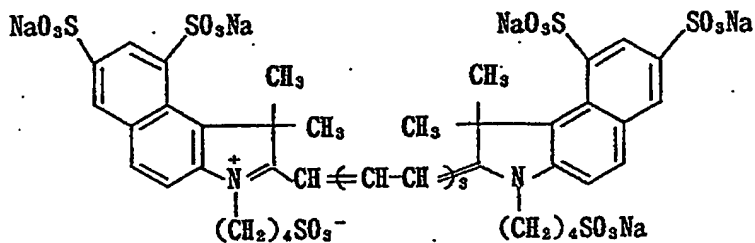
【化 5】



(式中、 $R^{17}$ および $R^{18}$ は無置換の炭素数1～5の低級アルキル基を表す)である請求項9記載のナトリウム塩。

【請求項 11】 下記式

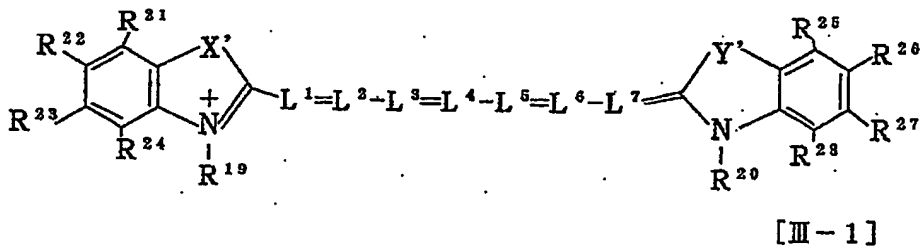
【化 6】



で表される請求項 10 記載のナトリウム塩。

【請求項12】 下記一般式〔I I I-1〕

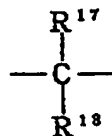
【化 7】



〔式中、 $L^1 \sim L^7$  は前述と同義であり、 $R^{19}$  および  $R^{20}$  はスルホン酸基で置換されている炭素数 1 ～ 5 の低級アルキル基を表し、 $R^{21} \sim R^{28}$  は同一または異なって、水素原子、スルホン酸基、カルボキシ基、水酸基、アルキル（スルホア

ルキル) アミノ基、ビス (スルホアルキル) アミノ基、スルホアルコキシ基、 (スルホアルキル) スルホニル基または (スルホアルキル) アミノスルホニル基を表し、X' および Y' は同一または異なって

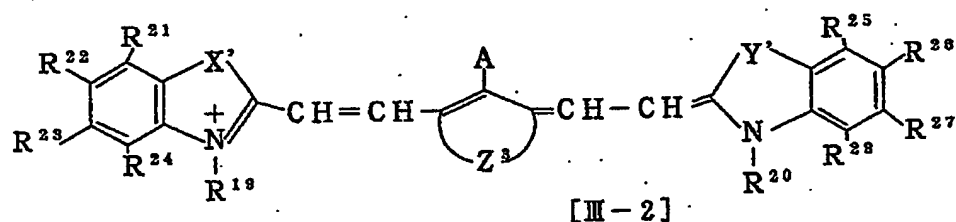
【化 8】



(式中、R<sup>17</sup> および R<sup>18</sup> は前述と同義) を表す] で表され、且つスルホン酸基を分子内に 3 個以上有する化合物のナトリウム塩。

【請求項 13】 下記一般式 [III-2]

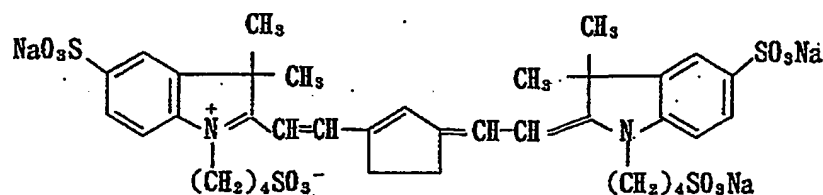
【化 9】



(式中、R<sup>19</sup> ~ R<sup>28</sup>、X' および Y' は前述と同義であり、Z<sup>3</sup> は 5 または 6 員環を形成するのに必要な非金属原子群を表し、A は水素原子または 1 価の基を表す) で表され、且つスルホン酸基を分子内に 3 個以上有する化合物のナトリウム塩である請求項 12 記載のナトリウム塩。

【請求項 14】 下記式

【化 10】

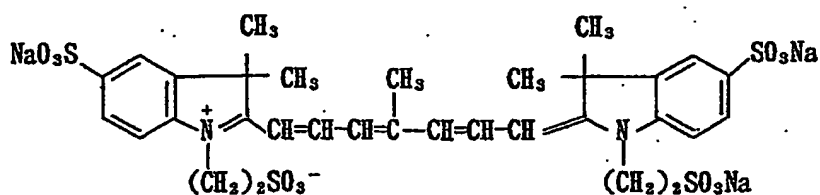


で表される請求項 13 記載のナトリウム塩。

【請求項 15】 下記式



【化 11】



で表される請求項 12 記載のナトリウム塩。

【請求項 16】 分子内のスルホン酸基の数が 4 個以上であることを特徴とする請求項 9、10、12 または 13 記載のナトリウム塩。

【請求項 17】 分子内のスルホン酸基の数が 10 個以下であることを特徴とする請求項 9、10、12、13 または 16 記載のナトリウム塩。

【請求項 18】 分子内のスルホン酸基の数が 8 個以下であることを特徴とする請求項 9、10、12、13 または 16 記載のナトリウム塩。

【請求項 19】 請求項 9～18 のいずれかに記載のナトリウム塩を含んでなる近赤外蛍光造影剤。

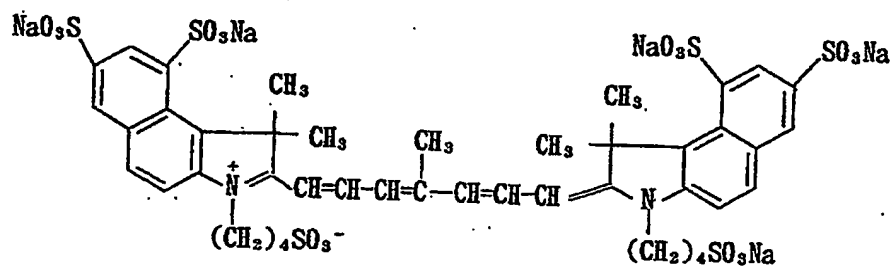
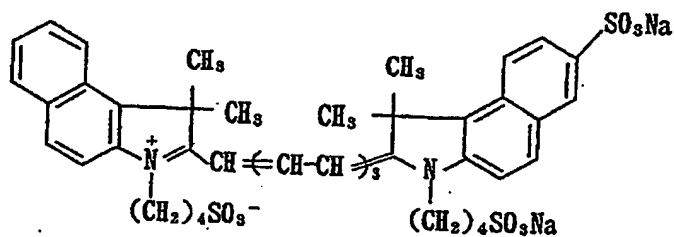
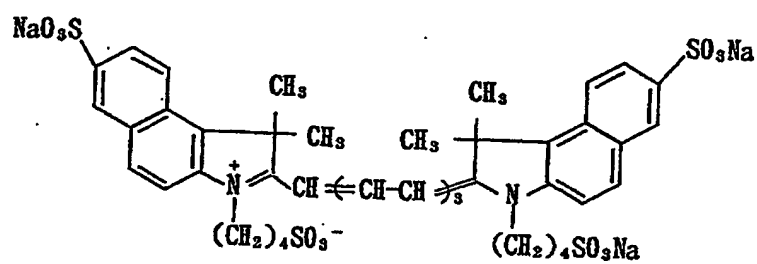
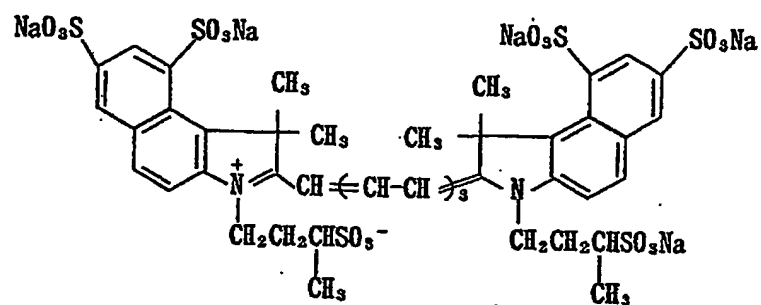
【請求項 20】 腫瘍造影用である請求項 19 記載の近赤外蛍光造影剤。

【請求項 21】 血管造影用である請求項 19 記載の近赤外蛍光造影剤。

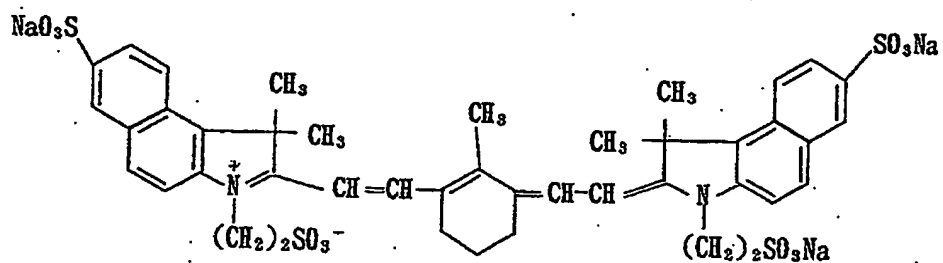
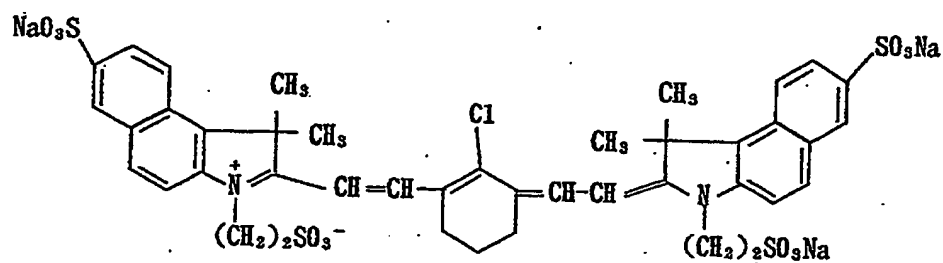
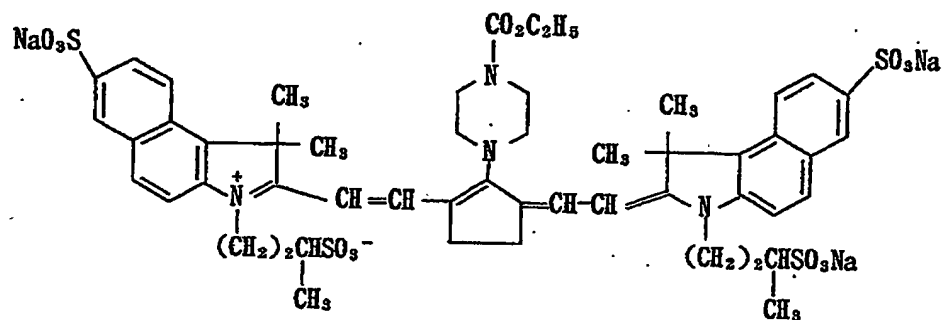
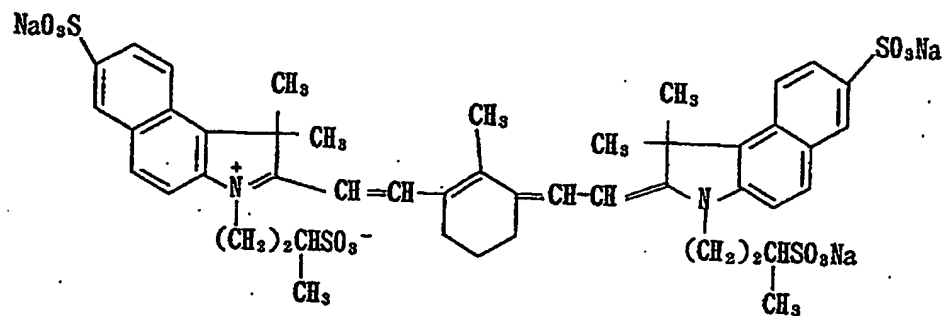
【請求項 22】 請求項 1 記載の近赤外蛍光造影剤を生体内に導入し、前記生体に励起光を照射し、前記造影剤からの近赤外蛍光を検出することによる体外蛍光造影方法。

【請求項 23】 下記化合物

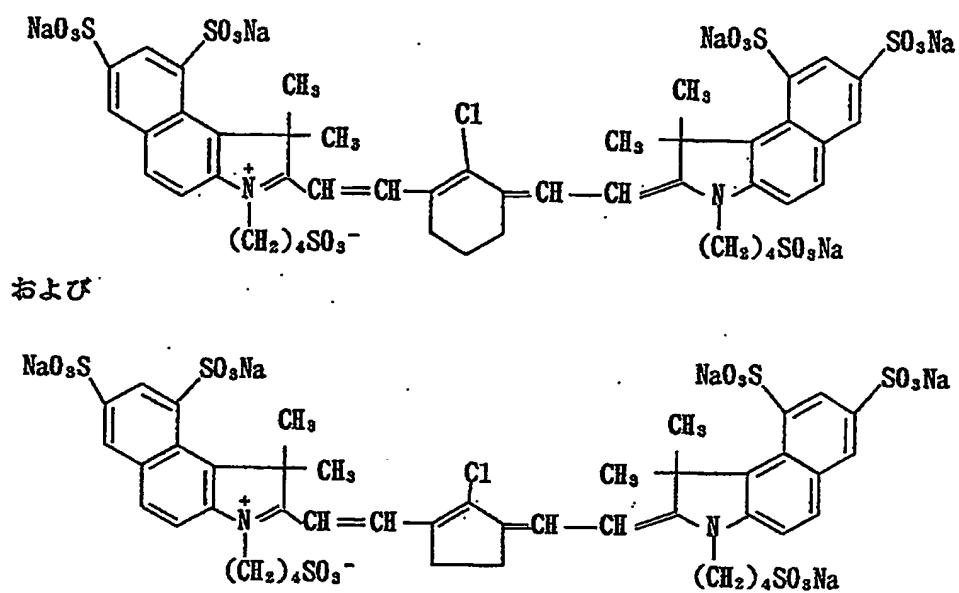
【化 1 2】



【化 13】



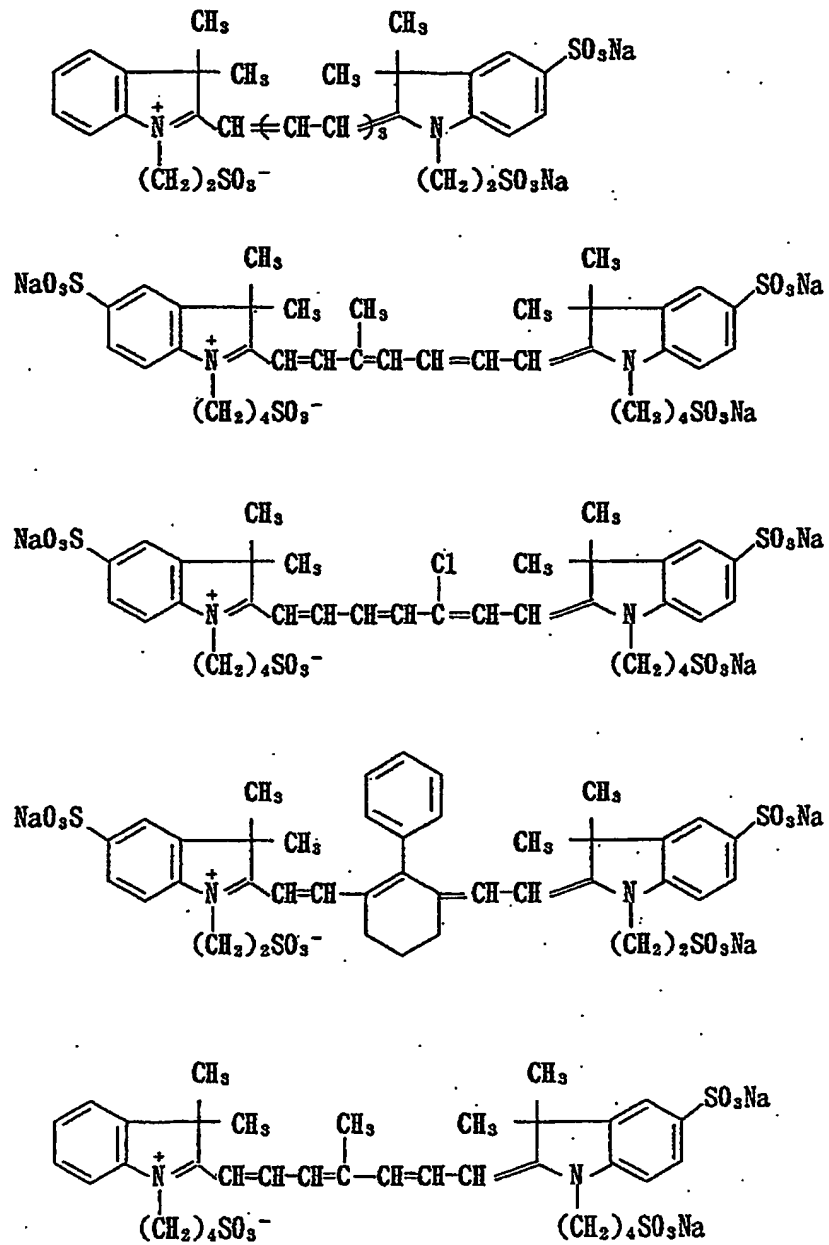
【化 14】



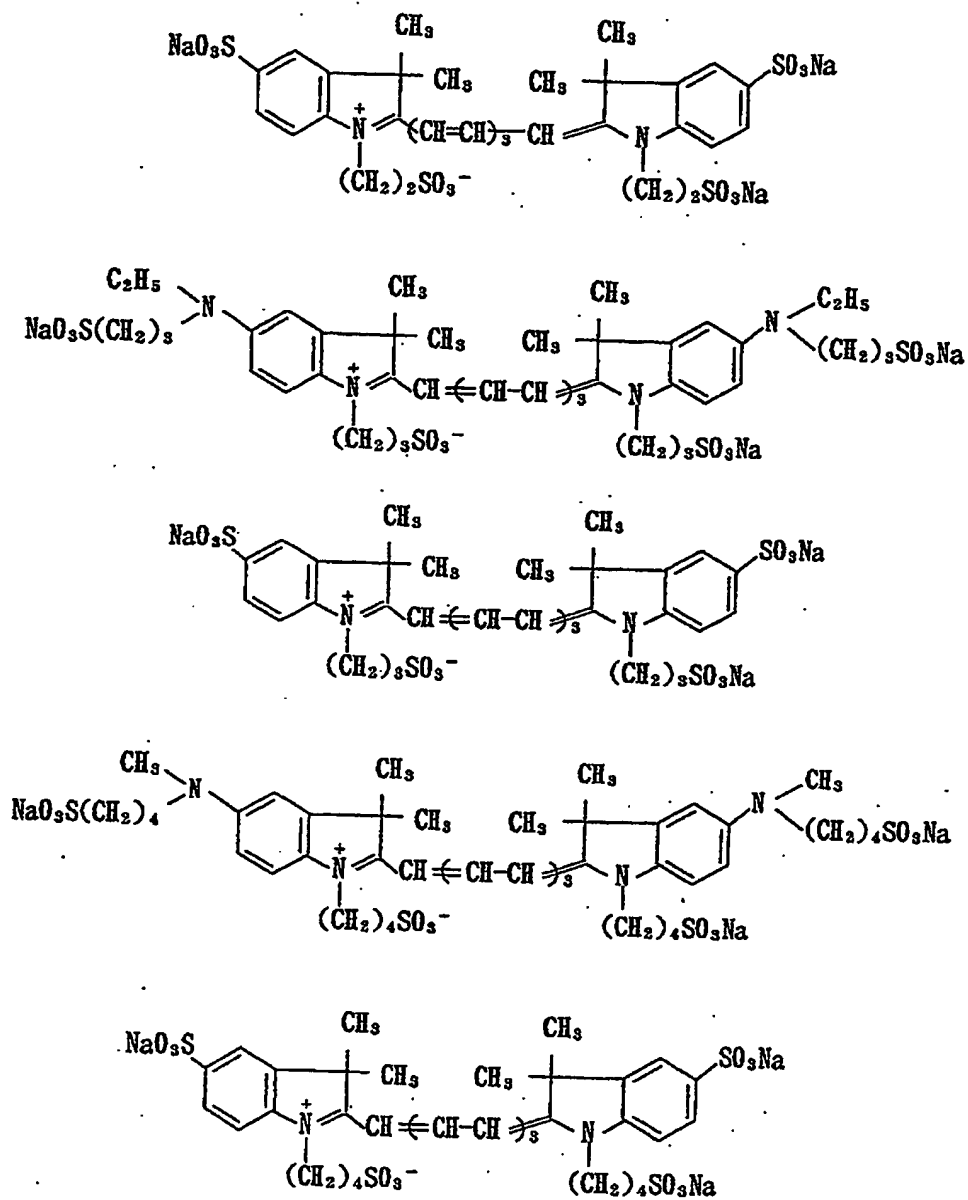
からなる群より選ばれる少なくとも1つである請求項9記載のナトリウム塩。

【請求項 24】 下記化合物

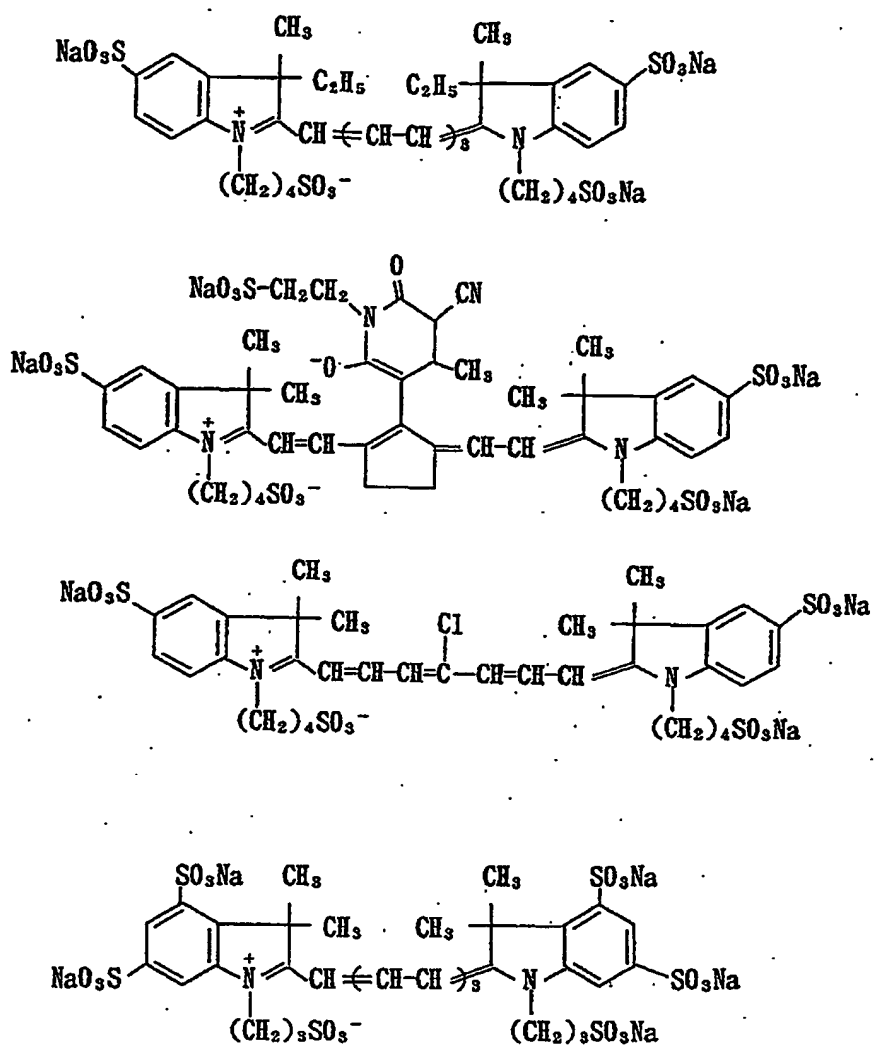
【化 15】



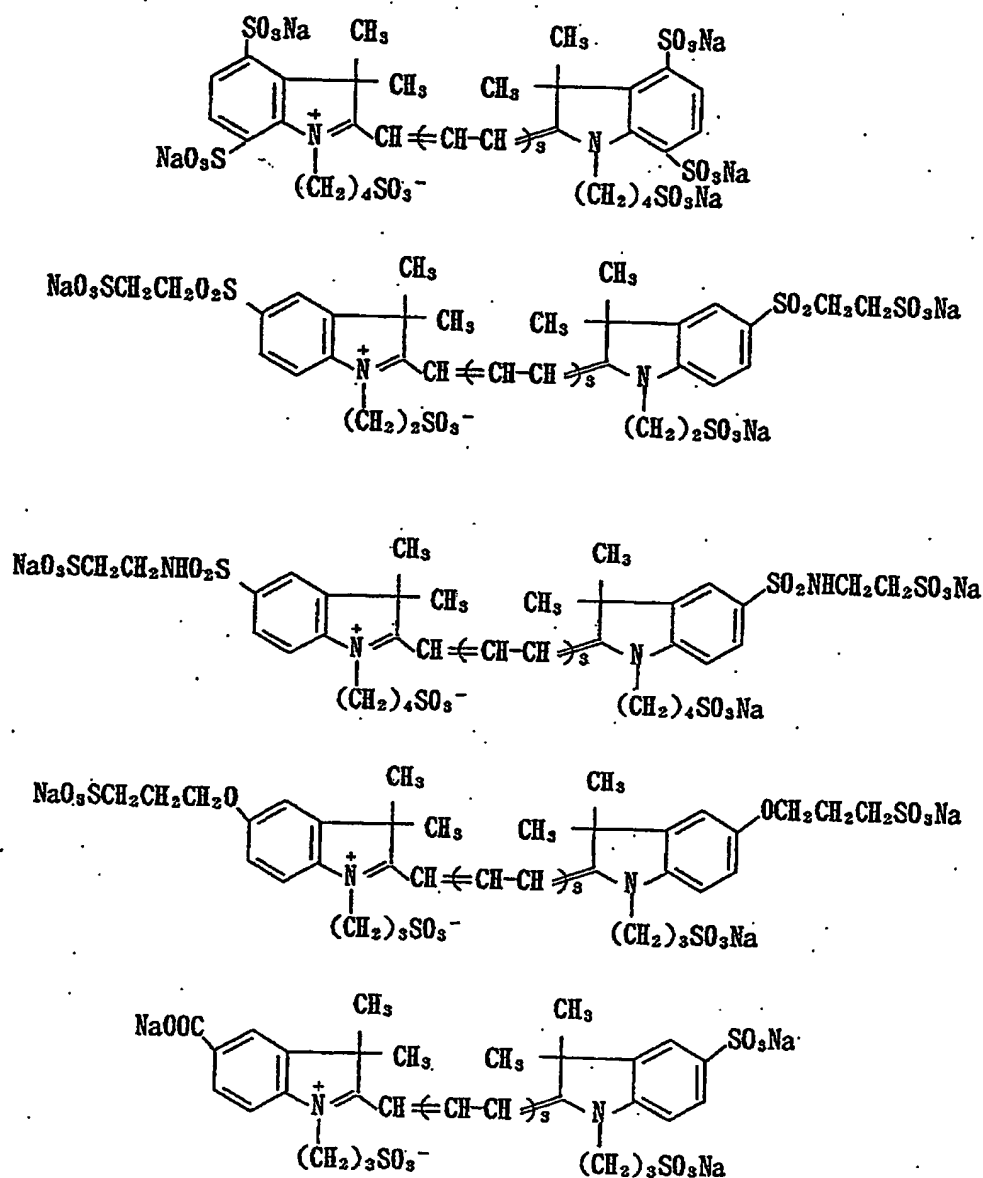
【化 16】



【化 17】

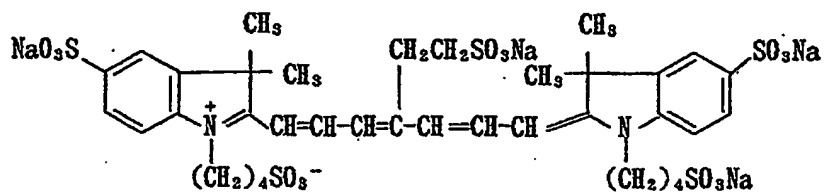
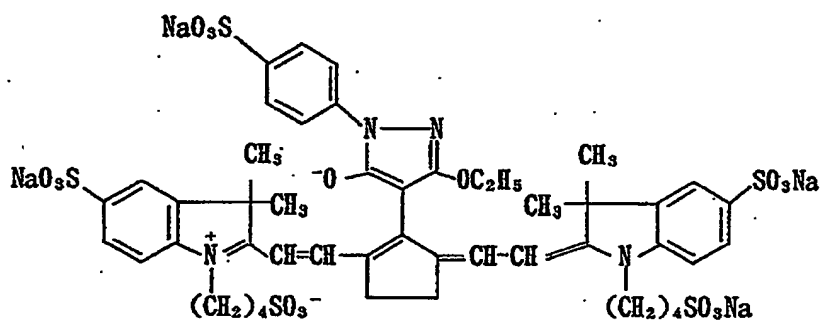
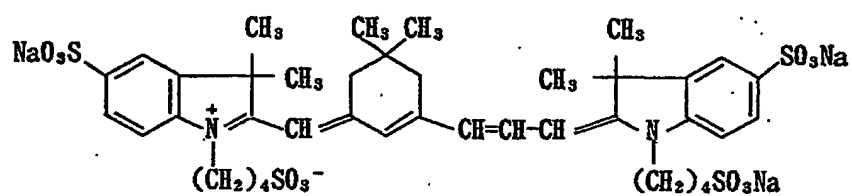
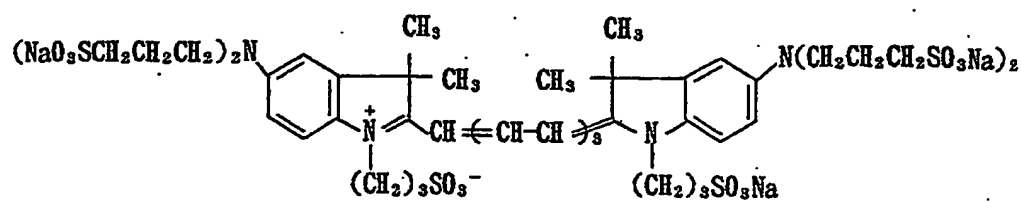


【化 18】

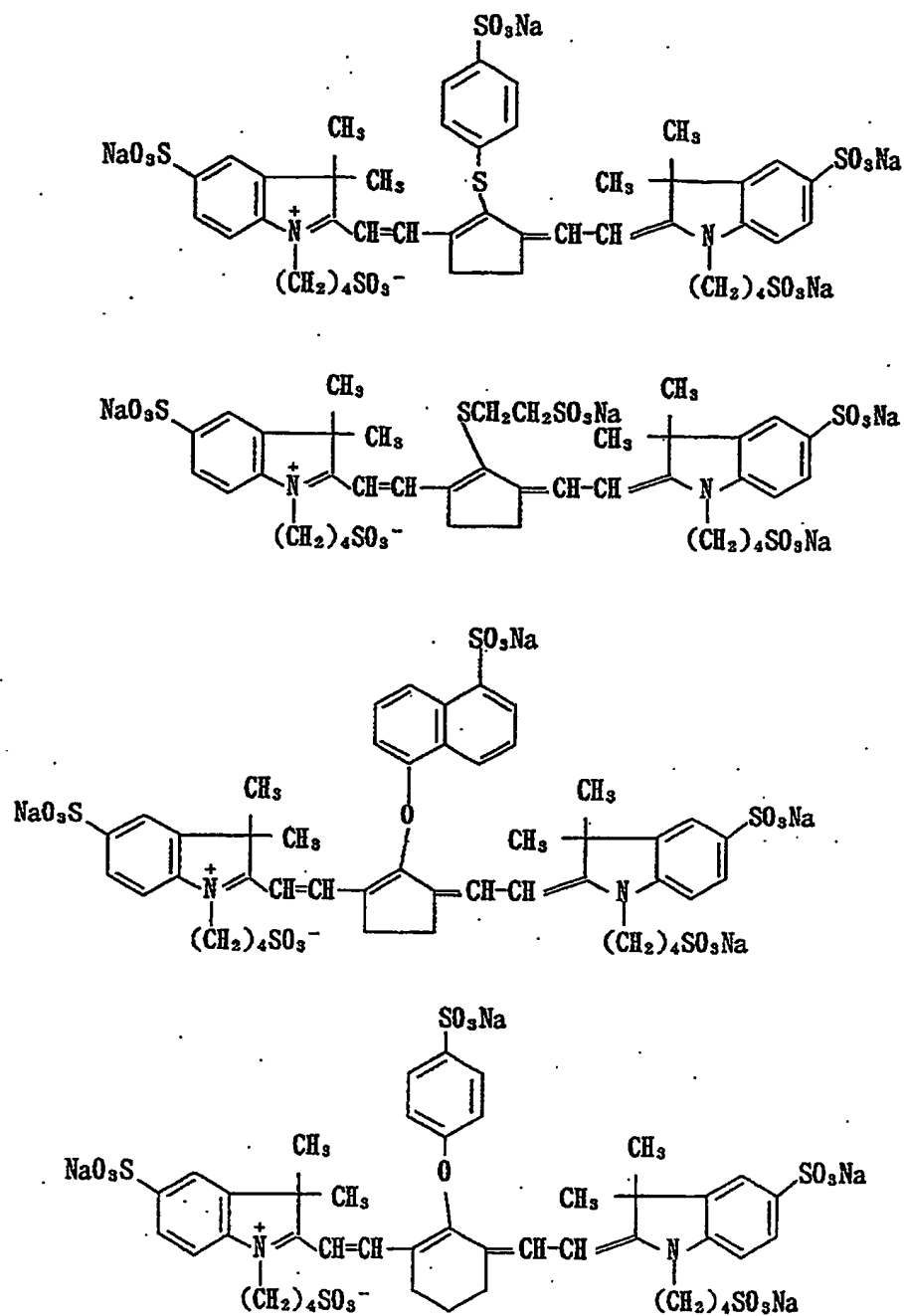




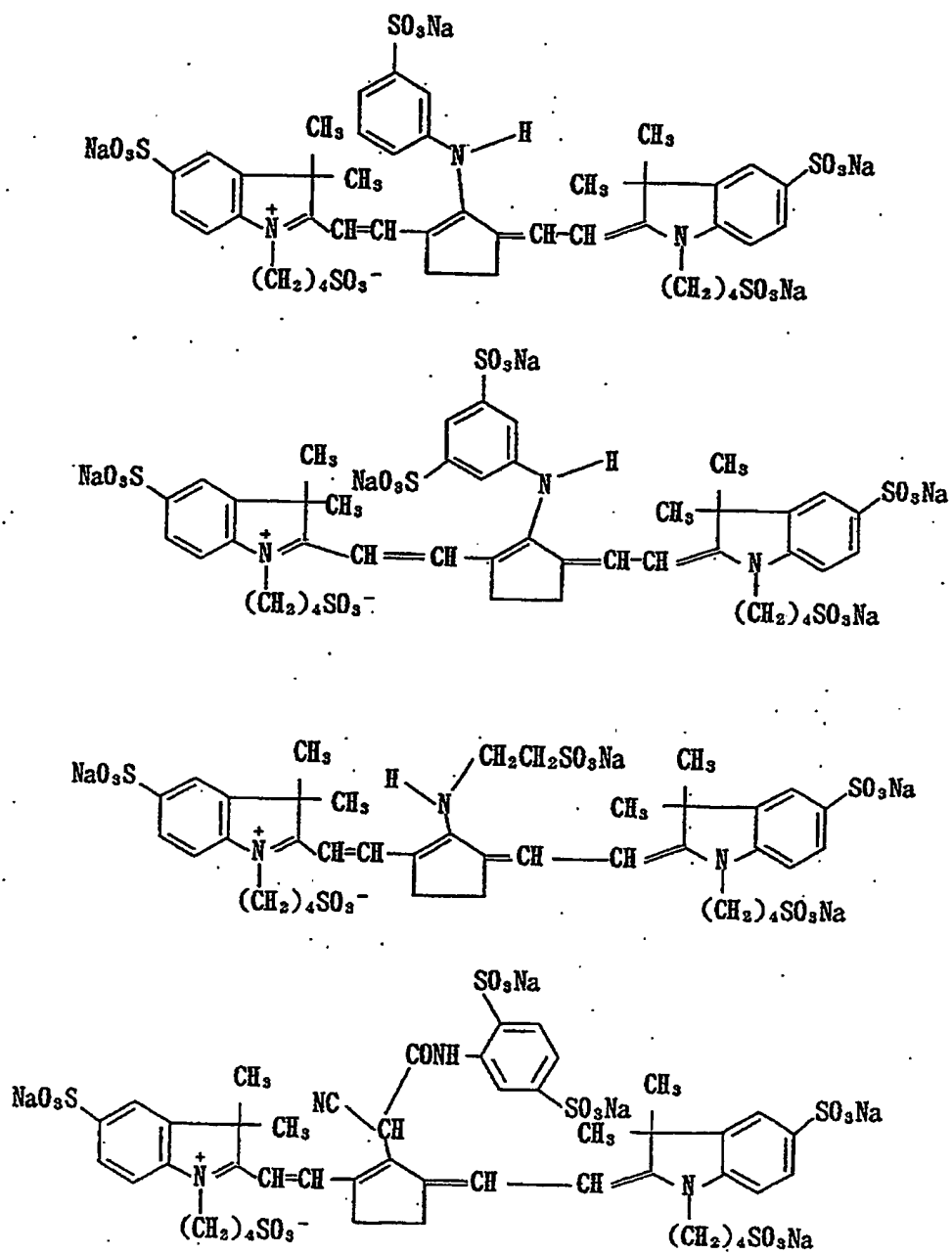
【化 19】



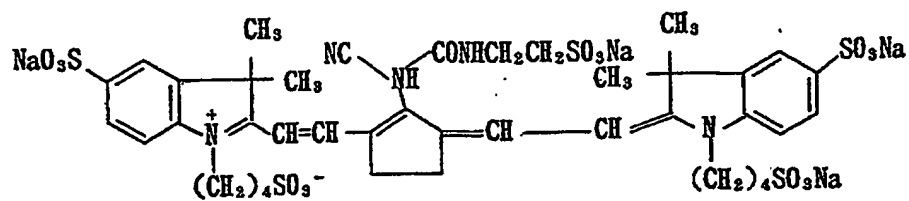
【化 20】



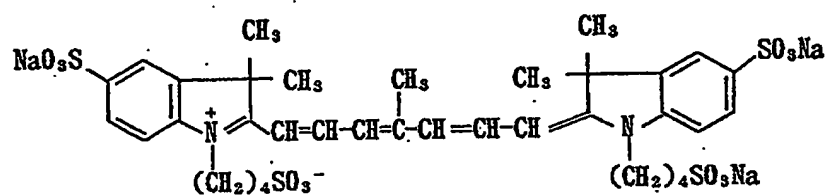
【化 21】



【化 22】



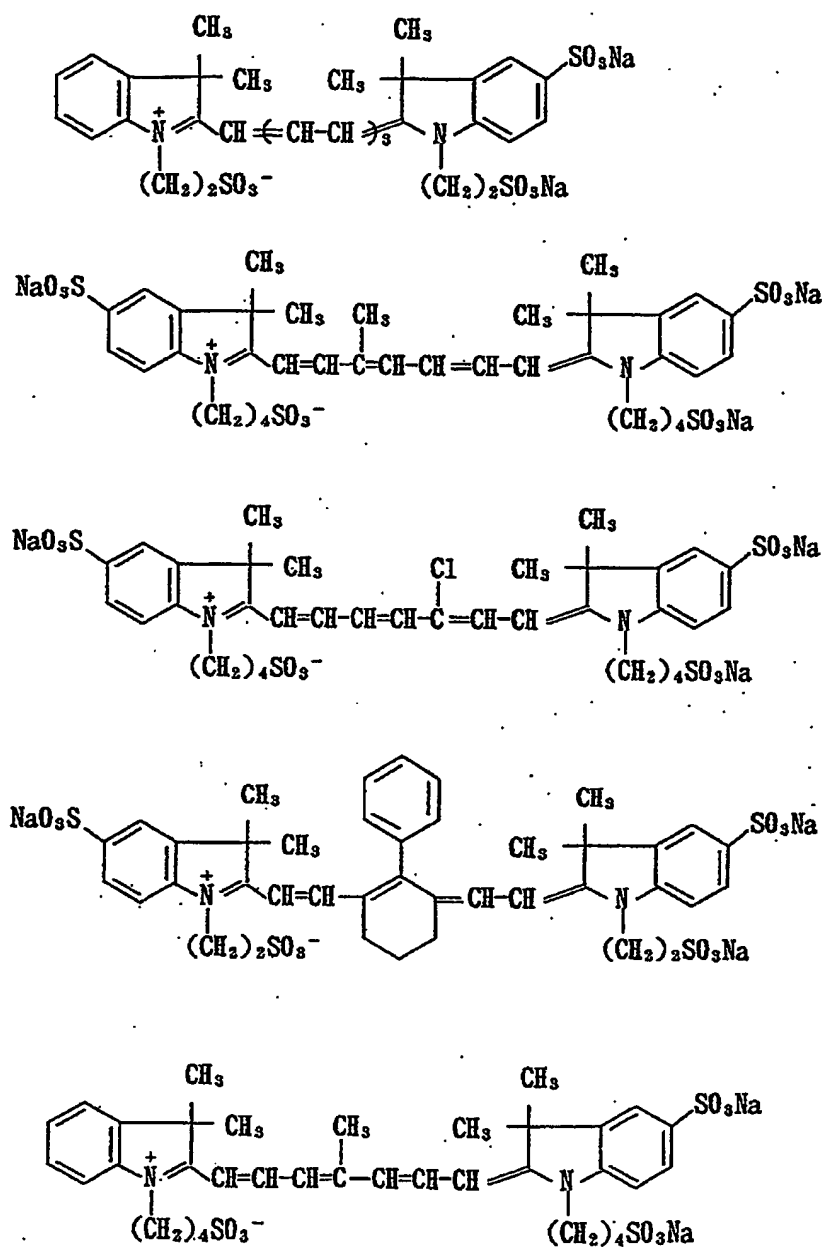
および



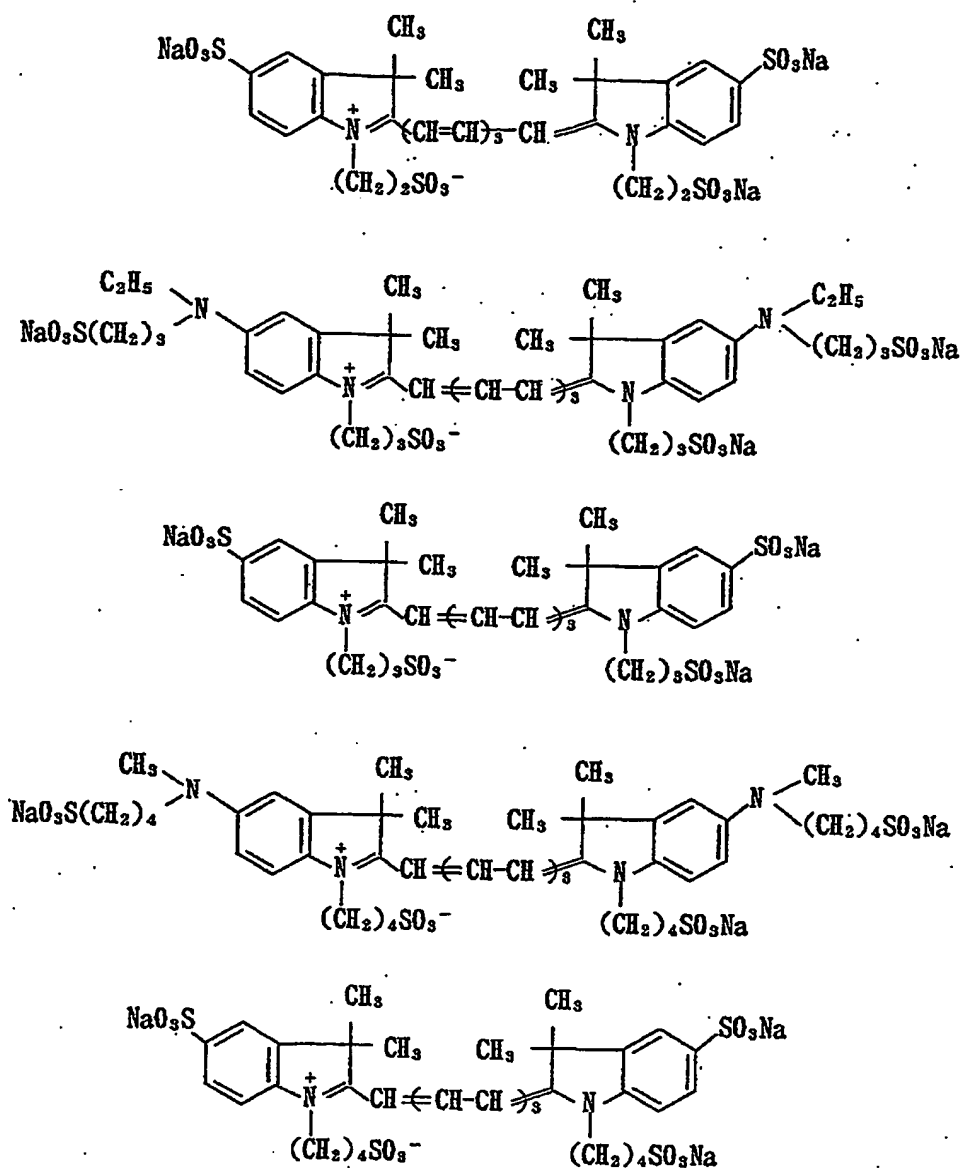
からなる群より選ばれる少なくとも1つである請求項12記載のナトリウム塩。

【請求項 25】 下記化合物

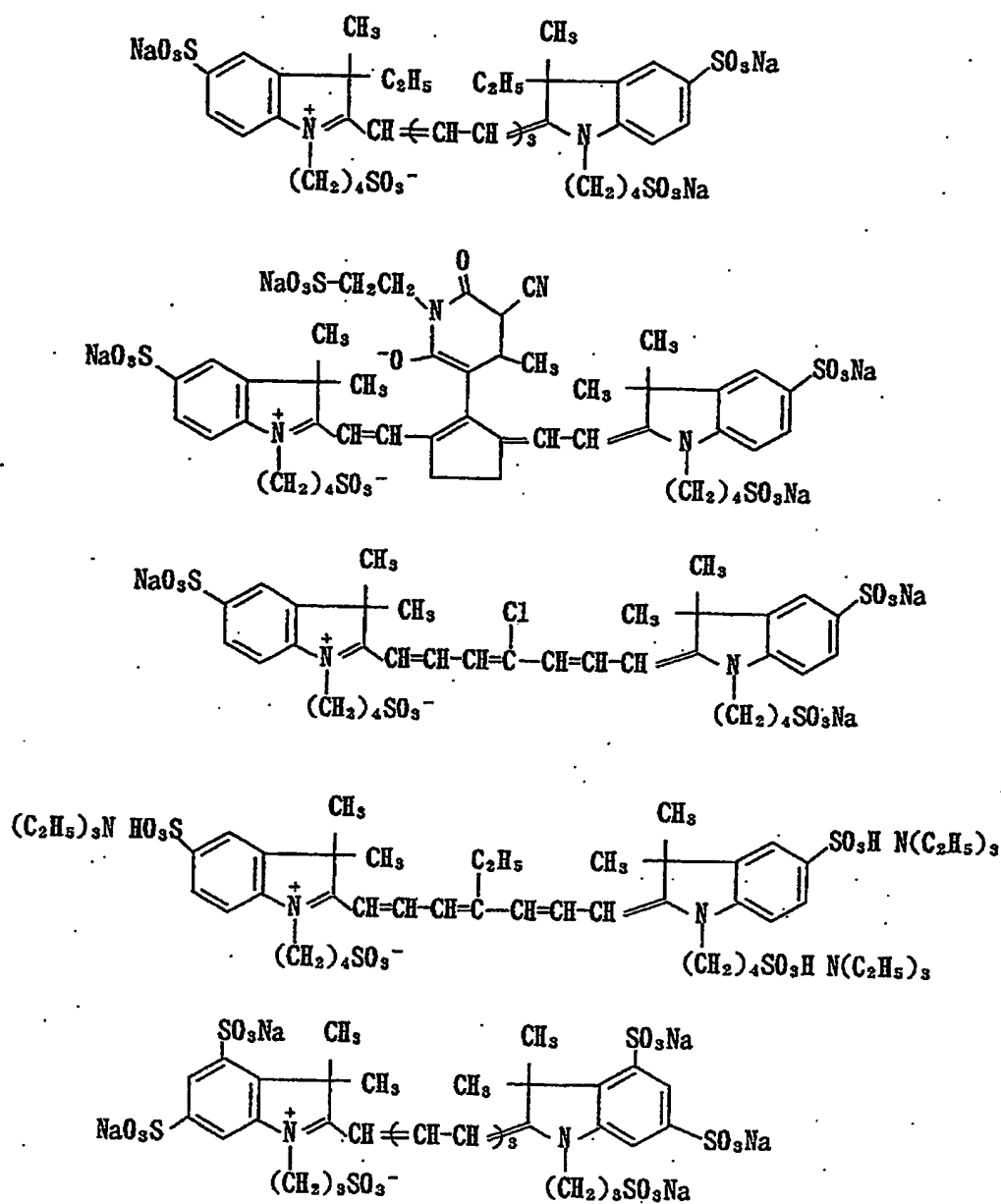
【化 23】



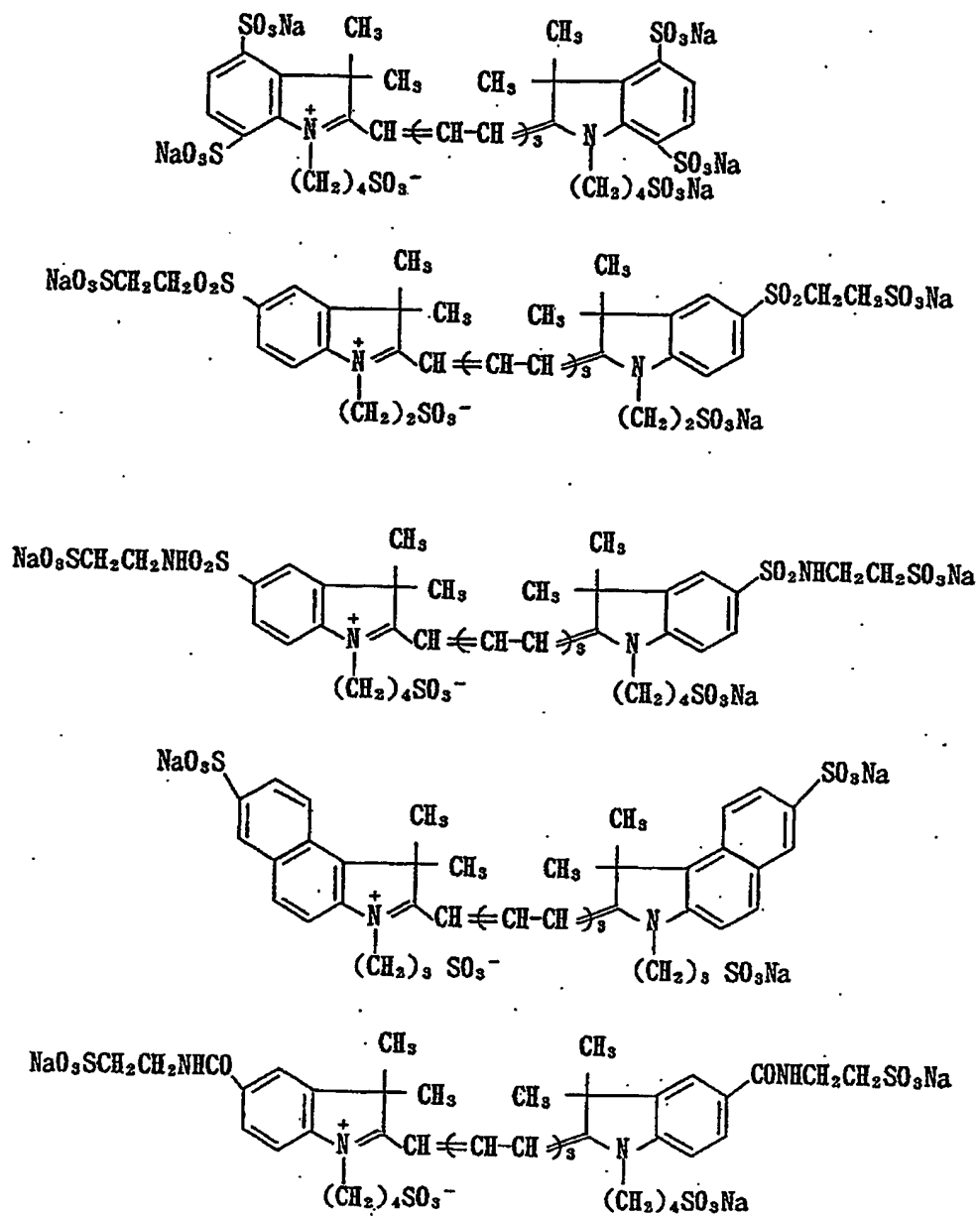
【化 24】



【化 25】

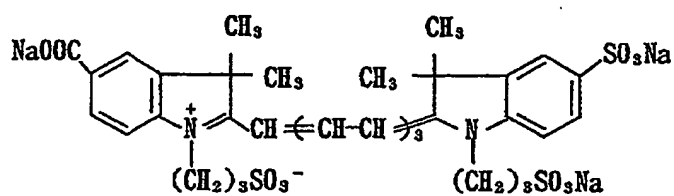
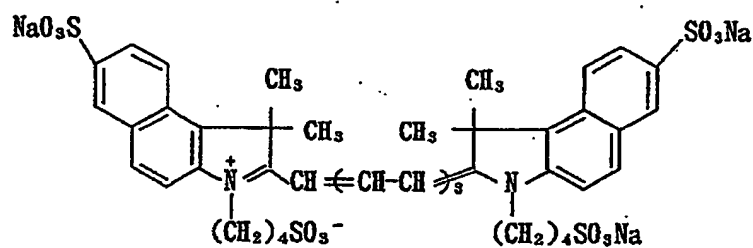
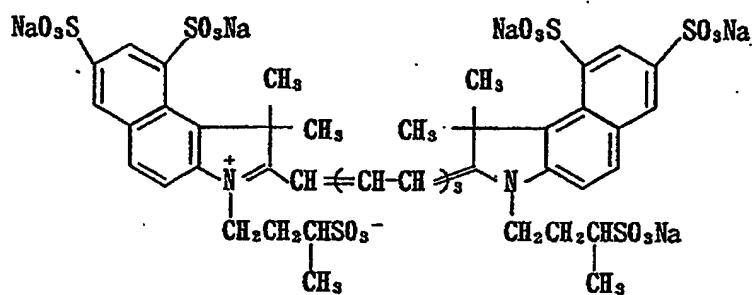
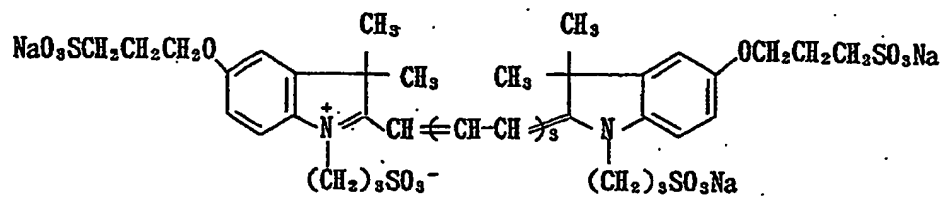


【化 26】

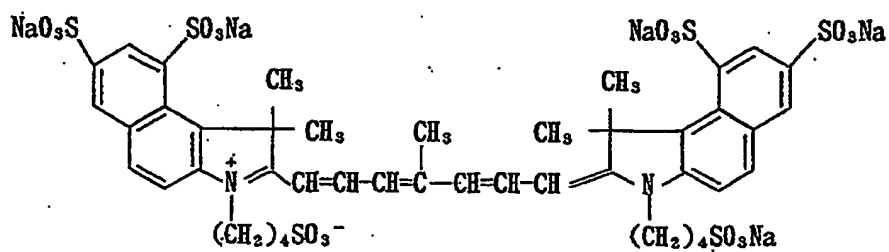
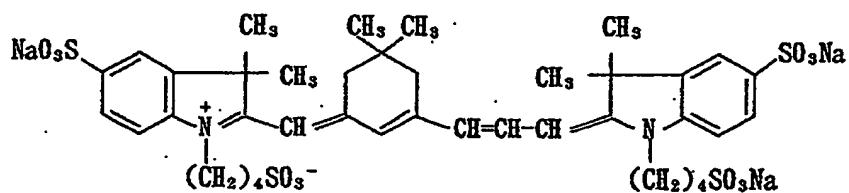
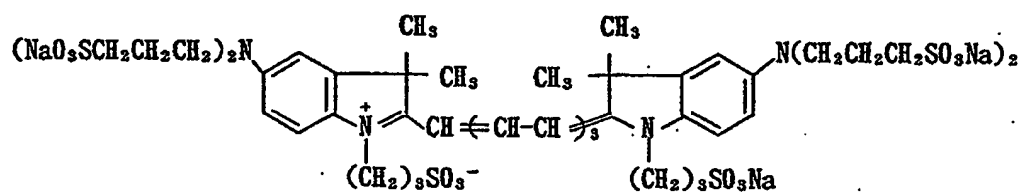
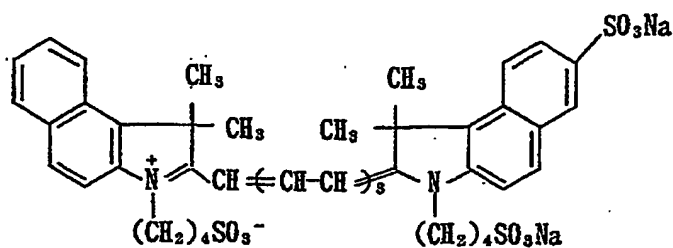




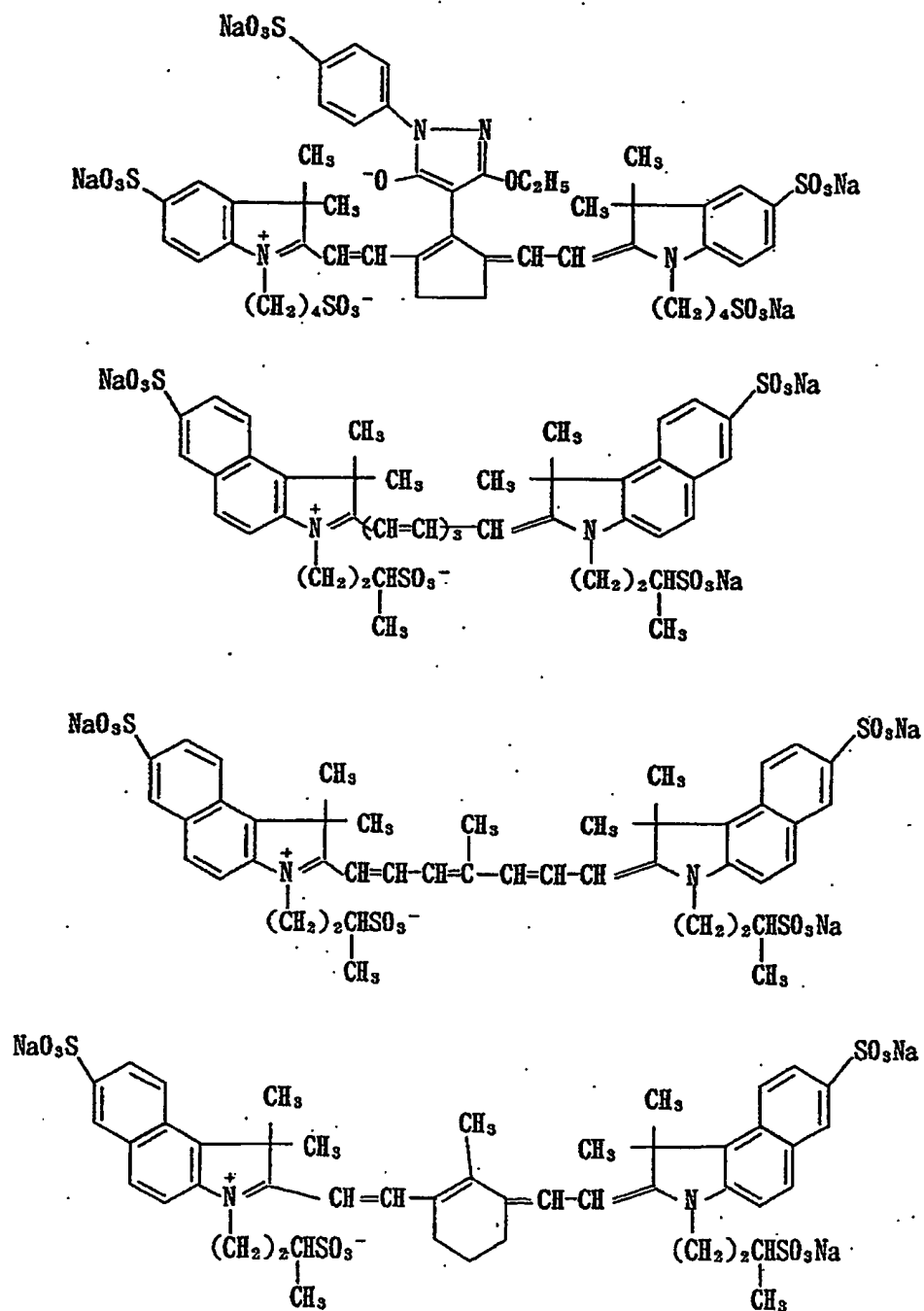
【化 27】



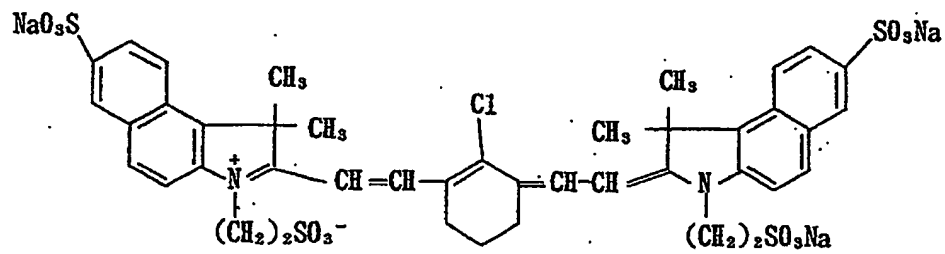
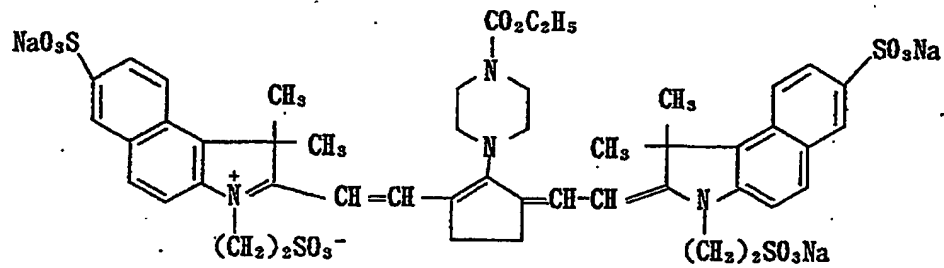
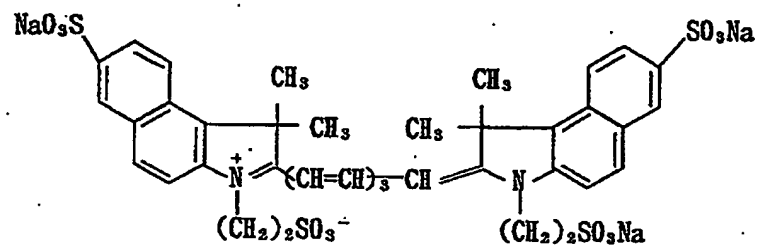
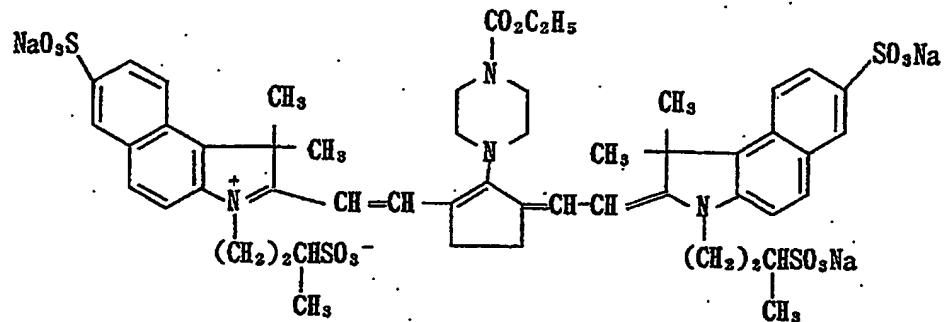
【化 28】



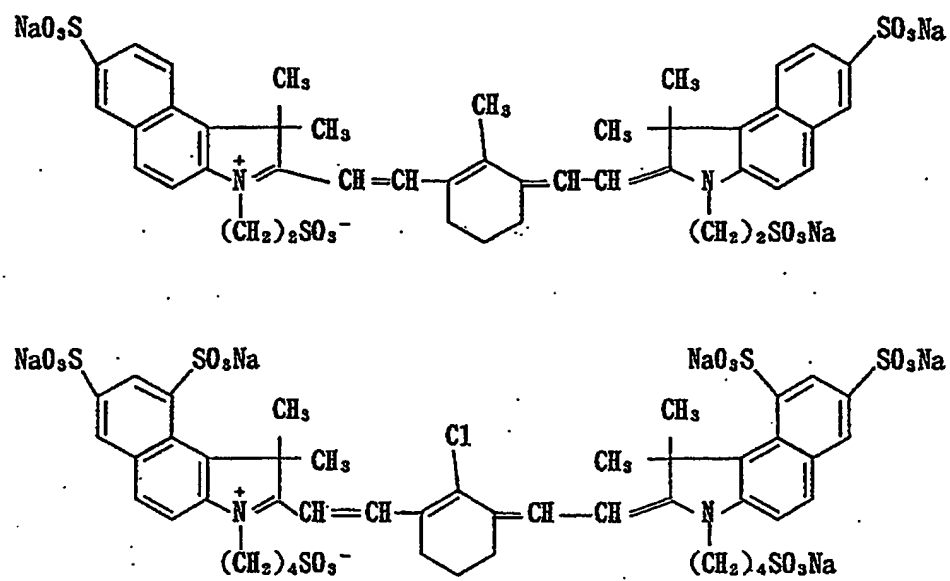
【化 29】



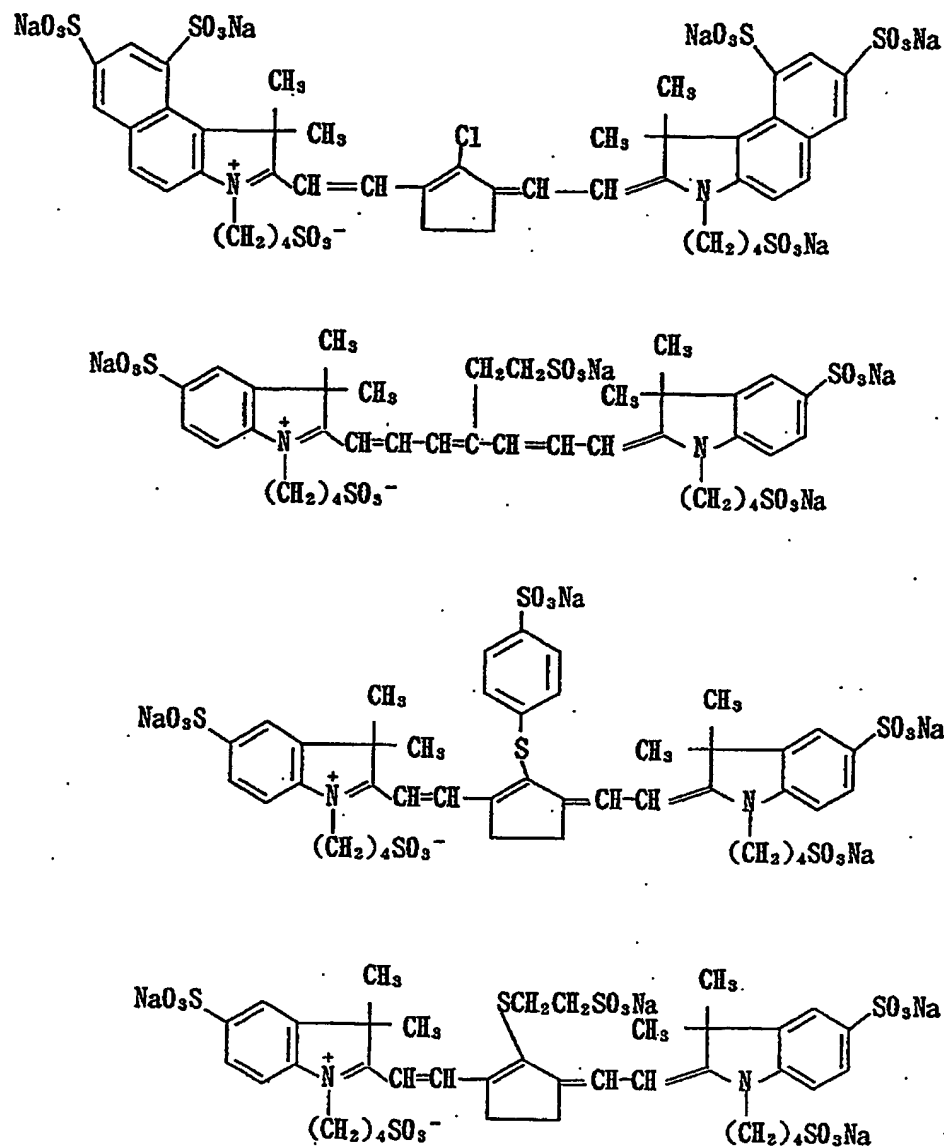
【化 30】



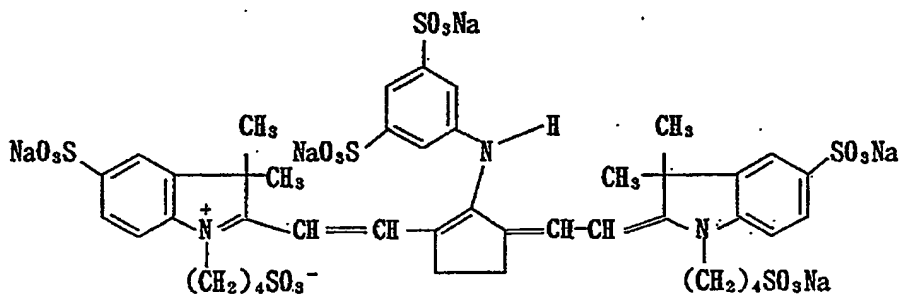
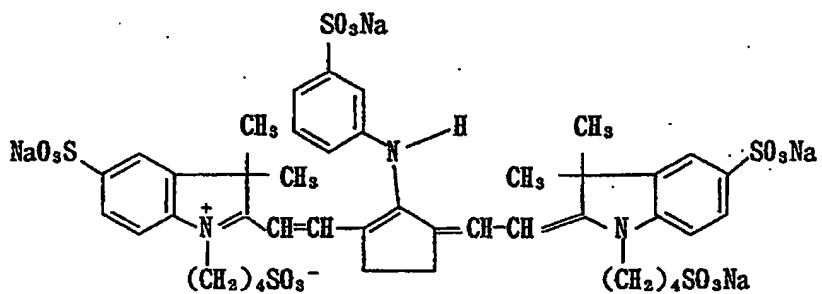
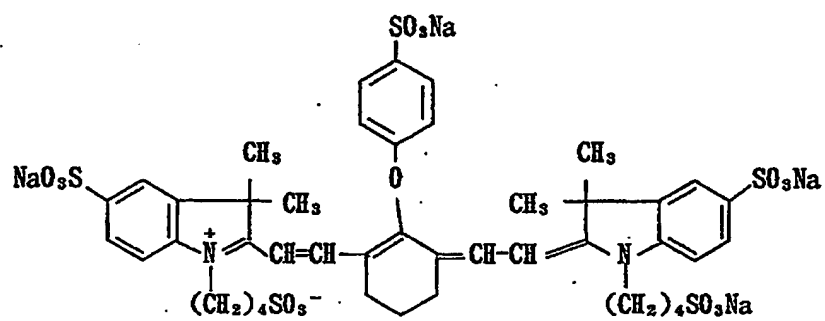
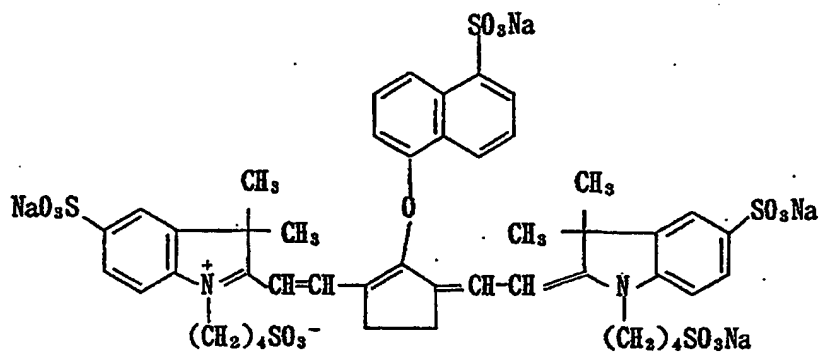
【化 3 1】



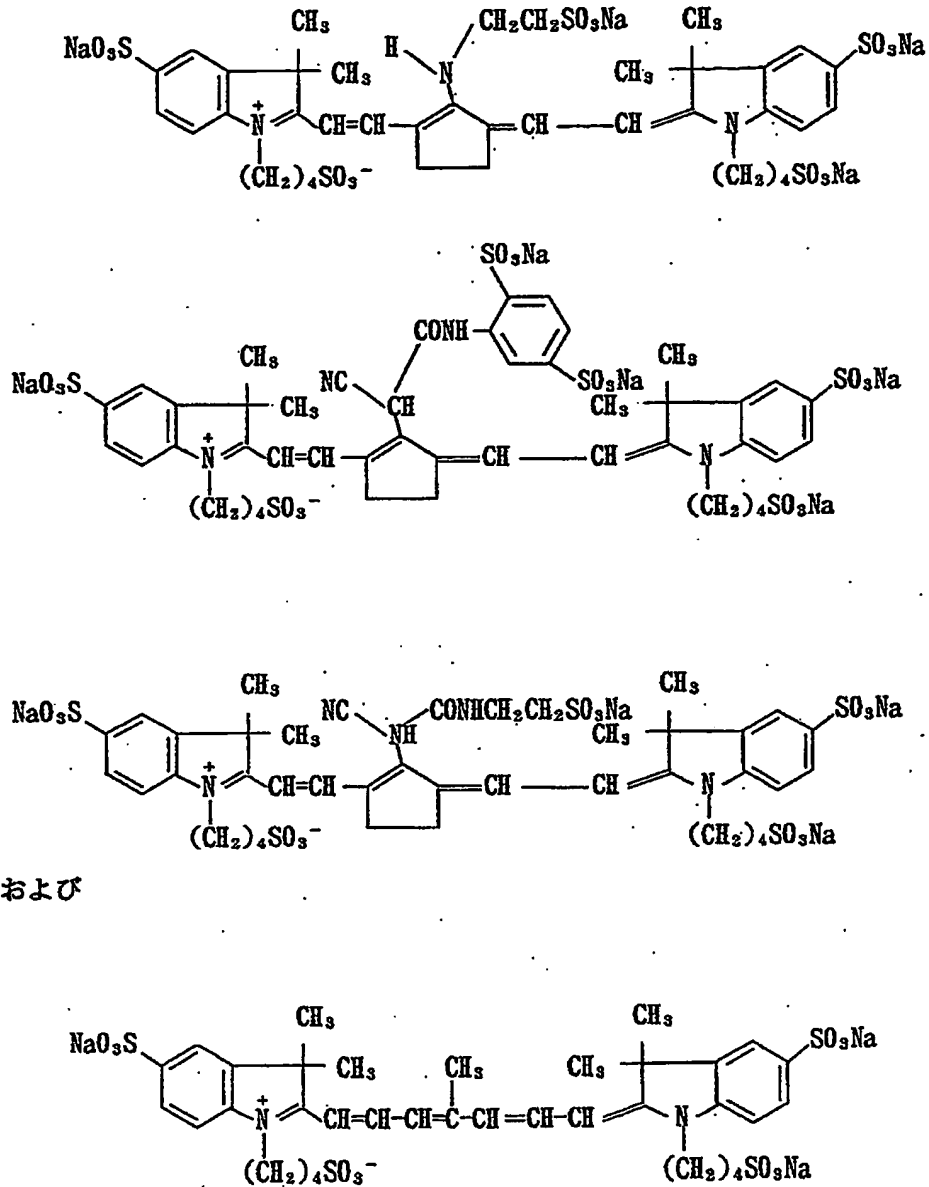
【化 3 2】



【化 33】



【化 34】



からなる群より選ばれる少なくとも1つの化合物を含んでなる請求項1記載の近赤外蛍光造影剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】



【発明の属する技術分野】

本発明は、近赤外蛍光造影剤ならびに当該造影剤を用いることによる蛍光造影方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

疾患の、治療においては、生体内での疾患に伴う形態学的、さらには機能的な変化を、疾病の早い段階で認知することが重要である。特に癌の治療においては腫瘍の位置や大きさを予め知る事は、その後の治療方針の決定に極めて重要な手段となる。すでに試みられている方法としては穿刺等による生検の他、X線造影、MRI造影、超音波診断等の画像診断法が挙げられる。生検は確定診断としては効果的ではあるが、被験者への負担が大きく、また病変の経時的変化の追跡には不向きである。また、X線やMRIにおいては被験者の放射線や電磁波の被曝は避けられない。さらに、上述のような従来の画像診断では、いずれも操作が煩雑で、測定、診断に時間がかかる。また装置が大型なために手術時への応用が難しい。

【0003】

画像診断法の一つとして、蛍光造影法が報告されている (Lipsn R.L. ら, J. Natl. Cancer Inst. (1961) 26, 1-11)。これは特定の波長の励起光により蛍光を発する物質を造影剤として用い、生体外から励起光を照射し、生体内の蛍光造影剤により発せられる蛍光を検出する方法である。

【0004】

このような蛍光造影剤としては、例えば腫瘍へ集積し、光化学治療 (photodynamic therapy, PDT) に用いられているヘマトポルフィリン等のポルフィリン系化合物が挙げられる (他にフォトフィリンやベンゾポルフィリン等が当該化合物群に含まれる: Lipsn R.L. ら, 上述、Meng T.S. ら, SPIE (1992) 1641, 90-98、WO 84/04665 等参照)。しかしながらこれらの化合物は本来 PDT において使用されるものであるため、光毒性 (PDT には当該特性が要求される) を有し、従って診断薬としては望ましいものではなかった。

【0005】

また、フルオレセイン、フルオレスカミンおよびリボフラビン等の既知の蛍光色素を用いる網膜循環系の細小血管造影法が知られている（米国特許4945239号）。しかしながら、当該蛍光色素は400～600nmという生体組織透過性の低い可視光領域に蛍光を発し、生体内のより深部の病変を検出することは困難であった。

#### 【0006】

また、肝機能や心拍出量を測定する為に用いられている化合物であるインドシアニングリーン（以下ICGと略す）をはじめとしたシアニン系化合物を蛍光造影剤として使用する例が報告されている（Haglund M.M.ら、Neurosurgery (1994), 35, 930、Li, X.ら、SPIE (1995) 2389, 789-797）。シアニン系化合物は近赤外光領域（700～1300nm）で吸収を示す。

#### 【0007】

近赤外光は、生体組織に対して高い透過性を有し、10cm程度の頭蓋をも透過可能であることから最近臨床医学の分野で注目を集めているものである。例えば、光CT技術（媒質の光透過性を用いたCT技術）は、近赤外光が生体を透過しうること、およびこの領域の光を用いることにより、生体内の酸素濃度や循環状態を観測しうることから新しい臨床分野での技術として注目されるようになったものである。

#### 【0008】

シアニン系化合物は上述のような生体組織透過性に優れた近赤外領域に蛍光を発し、蛍光造影剤としての利用が提案されている。特に、近年、種々のシアニン系化合物が開発され、蛍光造影剤としての利用が試みられている（WO96/17628、WO97/13490等）。しかしながら水溶性ならびに生体に対する安全性の点において、さらに病変部位の正常組織との区別、即ち造影を目的とする部位への選択性において十分なものは得られていないのが現状である。

#### 【0009】

##### 【発明が解決しようとする課題】

本発明は、生体組織透過性に優れた近赤外領域に蛍光を発し、且つ水溶性に優れた低毒性の蛍光造影剤、特に好ましくは腫瘍および／または血管を特異的に造影

することが可能な蛍光造影剤を提供することを目的とする。さらに本発明の別の目的は、当該近赤外蛍光造影剤を用いることによる蛍光造影方法を提供することである。

【0010】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは上記課題に鑑み鋭意研究を重ねた結果、シアニン系化合物においてスルホン酸基を3個以上導入することにより、水溶性の高い蛍光造影剤を得ることに成功し、さらに当該造影剤を用いることによる蛍光造影方法を確立して本発明を完成するに至った。

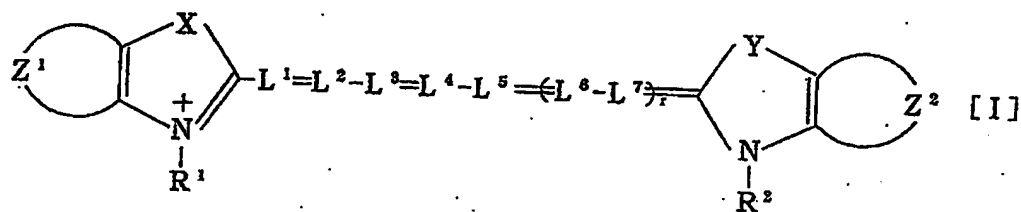
【0011】

すなわち、本発明は以下の通りである。

(1) 一般式 [I]

【0012】

【化35】



【0013】

〔式中、 $R^1$  および  $R^2$  は同一または異なって置換または無置換のアルキル基を表し、

$Z^1$  および  $Z^2$  はそれぞれ置換または無置換のベンゾ縮合環あるいはナフト縮合環を形成するために必要な非金属原子群を表し、

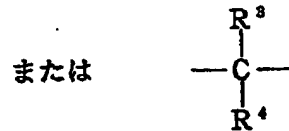
$r$  は0、1または2を表し、

$L^1 \sim L^7$  ( $r$  が2の時は、重複する  $L^6$  と  $L^7$  は同一または異なる) は同一または異なって置換または無置換のメチン基を表し、

$X$  および  $Y$  は同一または異なって

【0014】

【化 36】



【0015】

(式中、 $R^3$ 、 $R^4$  は同一または異なって置換または無置換のアルキル基を表す) で表され、且つスルホン酸基を分子内に 3 個以上有する化合物、またはその医薬上許容しうる塩を含んでなる近赤外蛍光造影剤。

(2) 一般式〔I〕において  $r$  が 1 である上記 (1) 記載の近赤外蛍光造影剤。

(3) 分子内のスルホン酸基の数が 4 個以上であることを特徴とする上記 (1) または (2) 記載の近赤外蛍光造影剤。

(4) 分子内のスルホン酸基の数が 10 個以下であることを特徴とする上記 (1) ～ (3) のいずれかに記載の近赤外蛍光造影剤。

(5) 分子内のスルホン酸基の数が 8 個以下であることを特徴とする上記 (1) ～ (3) のいずれかに記載の近赤外蛍光造影剤。

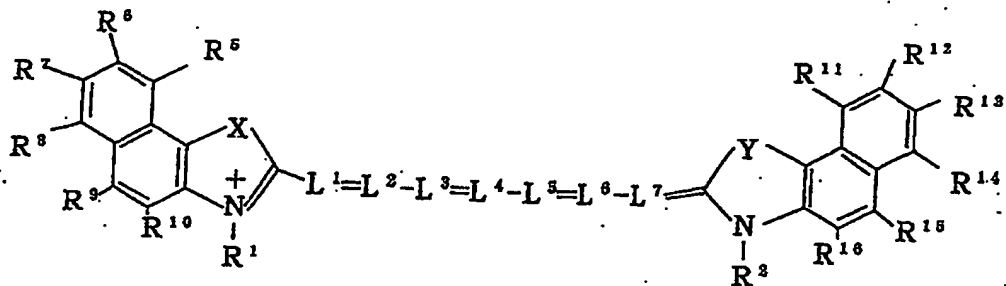
(6) 医薬上許容しうる塩がナトリウム塩である上記 (1) ～ (5) のいずれかに記載の近赤外蛍光造影剤。

(7) 腫瘍造影用および／または血管造影剤用である上記 (1) ～ (6) のいずれかに記載の近赤外蛍光造影剤。

(8) 一般式〔II〕

【0016】

【化 37】



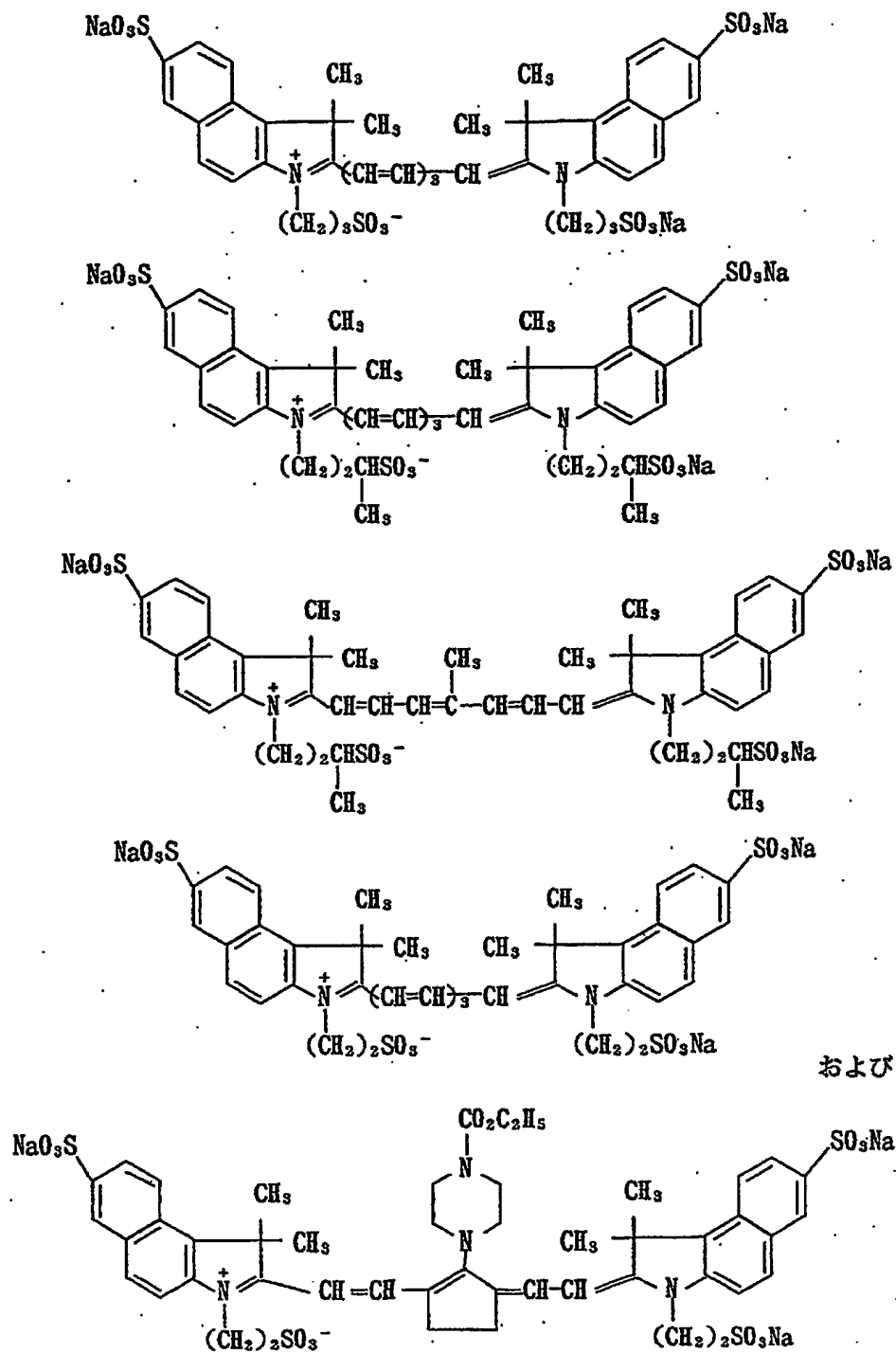
【II】

【0017】

(式中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $L^1 \sim L^7$ 、XおよびYは前述と同義であり、 $R^5 \sim R^{16}$ は同一または異なって水素原子、スルホン酸基、カルボキシル基、水酸基、アルキル(スルホアルキル)アミノ基、ビス(スルホアルキル)アミノ基、スルホアルコキシ基、(スルホアルキル)スルホニル基または(スルホアルキル)アミノスルホニル基を表す)で表され、且つスルホン酸基を分子内に3個以上有する化合物のナトリウム塩。但し

【0018】

【化 38】



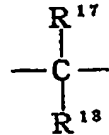
【0019】

を除く。

(9) 一般式 [I I] において、  
 $R^1$  および  $R^2$  がスルホン酸基で置換されている炭素数 1~5 の低級アルキル基  
 であり、且つ X および Y が同一または異なって

【0020】

【化39】



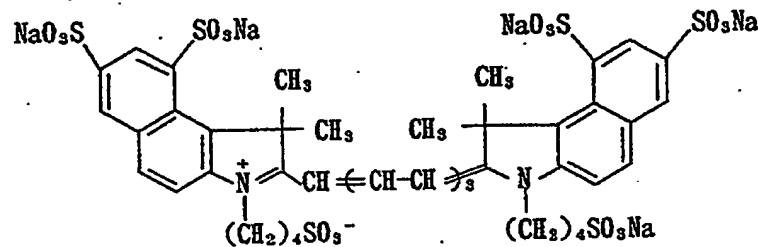
【0021】

(式中、 $R^{17}$  および  $R^{18}$  は無置換の炭素数 1~5 の低級アルキル基を表す) であ  
 る上記 (8) 記載のナトリウム塩。

(10) 下記式

【0022】

【化40】



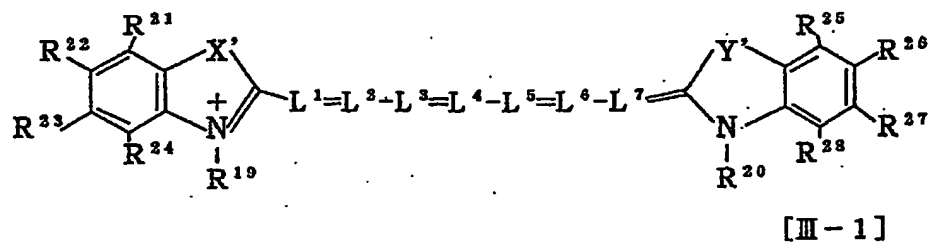
【0023】

で表される上記 (9) 記載のナトリウム塩。

(11) 下記一般式 [I I I - 1]

【0024】

【化 4 1】

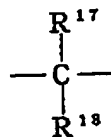


【0025】

〔式中、 $L^1 \sim L^7$  は前述と同義であり、 $R^{19}$  および  $R^{20}$  はスルホン酸基で置換されている炭素数 1～5 の低級アルキル基を表し、 $R^{21} \sim R^{28}$  は同一または異なって、水素原子、スルホン酸基、カルボキシ基、水酸基、アルキル（スルホアルキル）アミノ基、ビス（スルホアルキル）アミノ基、スルホアルコキシ基、（スルホアルキル）スルホニル基または（スルホアルキル）アミノスルホニル基を表し、 $X'$  および  $Y'$  は同一または異なって

【0026】

【化 4 2】



【0027】

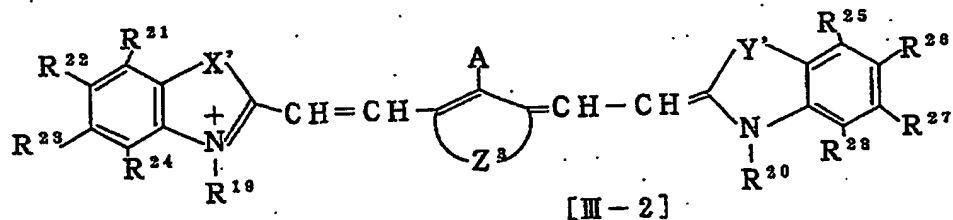
（式中、 $R^{17}$  および  $R^{18}$  は前述と同義）を表す〕で表され、且つスルホン酸基を分子内に 3 個以上有する化合物のナトリウム塩。

（12）下記一般式【ⅡⅡ-2】

【0028】



【化 4 3】



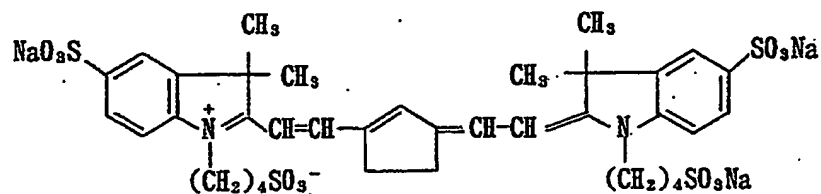
【0029】

(式中、 $R^{19} \sim R^{28}$ 、 $X'$  および  $Y'$  は前述と同義であり、 $Z^3$  は5または6員環を形成するのに必要な非金属原子群を表し、 $A$ は水素原子または1価の基を表す) で表され、且つスルホン酸基を分子内に3個以上有する化合物のナトリウム塩である上記(11)記載のナトリウム塩。

(13) 下記式

【0030】

【化 4 4】



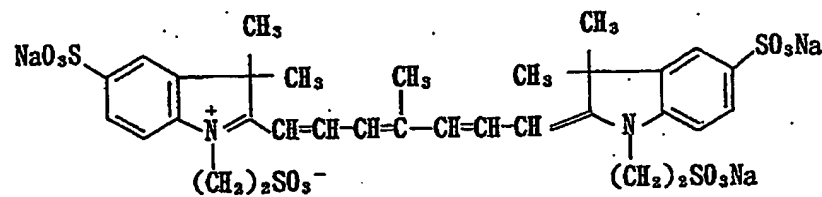
【0031】

で表される上記(12)記載のナトリウム塩。

(14) 下記式

【0032】

【化 45】



【0033】

で表される上記（11）記載のナトリウム塩。

（15）分子内のスルホン酸基の数が4個以上であることを特徴とする上記（8）、（9）、（11）または（12）記載のナトリウム塩。

（16）分子内のスルホン酸基の数が10個以下であることを特徴とする上記（8）、（9）、（11）、（12）または（15）記載のナトリウム塩。

（17）分子内のスルホン酸基の数が8個以下であることを特徴とする上記（8）、（9）、（11）、（12）または（15）記載のナトリウム塩。

（18）上記（8）～（17）のいずれかに記載のナトリウム塩を含んでなる近赤外蛍光造影剤。

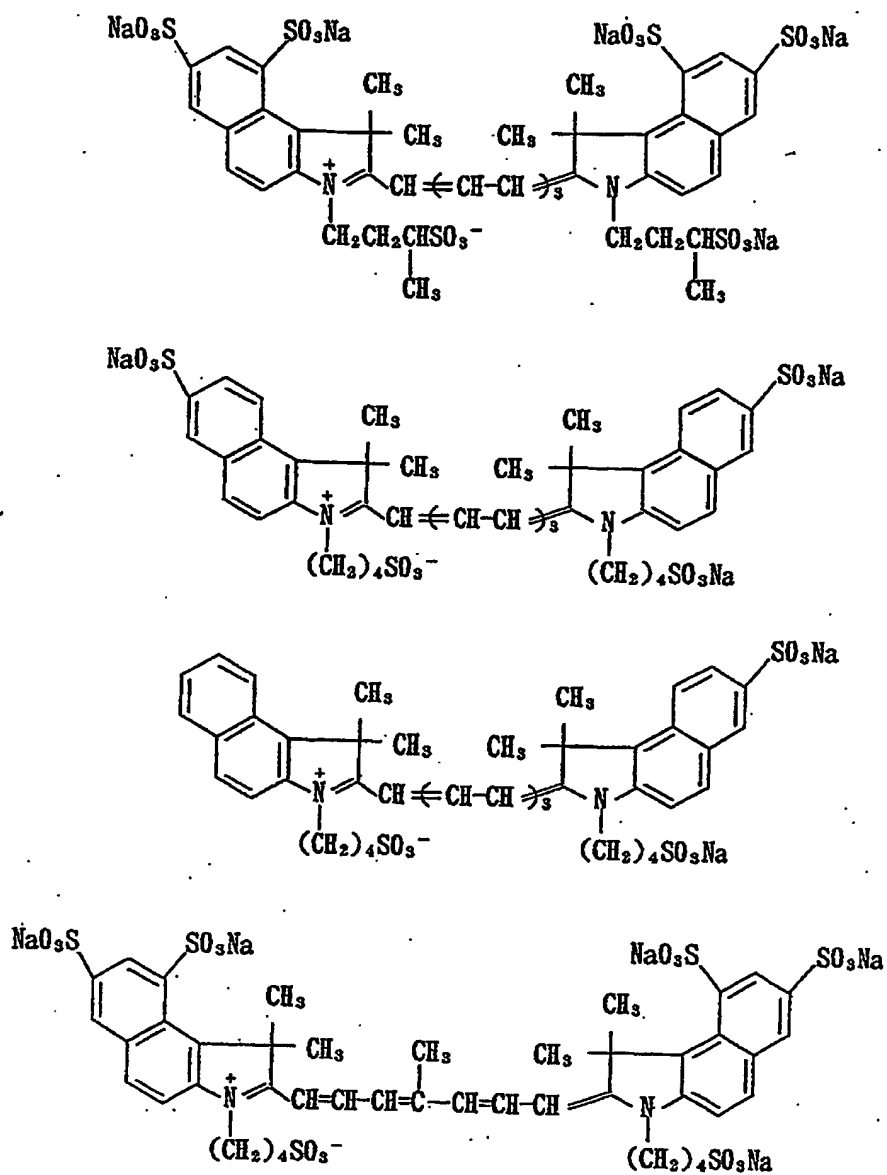
（19）腫瘍造影用および／または血管造影用である上記（18）記載の近赤外蛍光造影剤。

（20）上記（1）記載の近赤外蛍光造影剤を生体内に導入し、前記生体を励起光照射し、前記造影剤からの近赤外蛍光を検出することによる体外蛍光造影方法。

（21）下記化合物

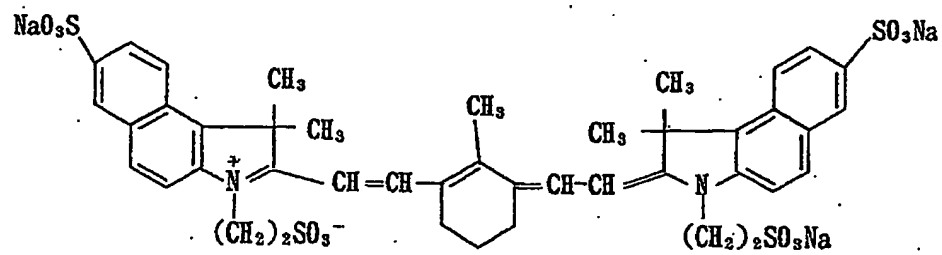
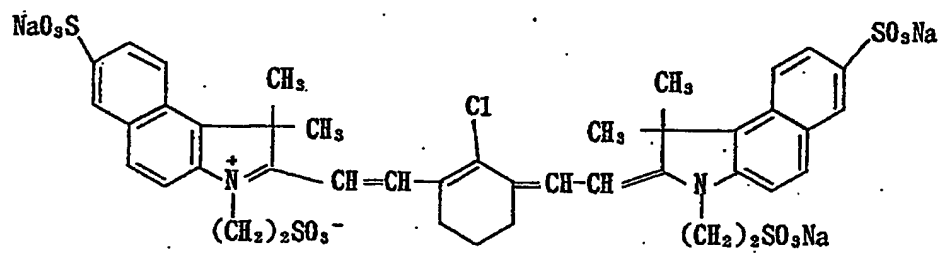
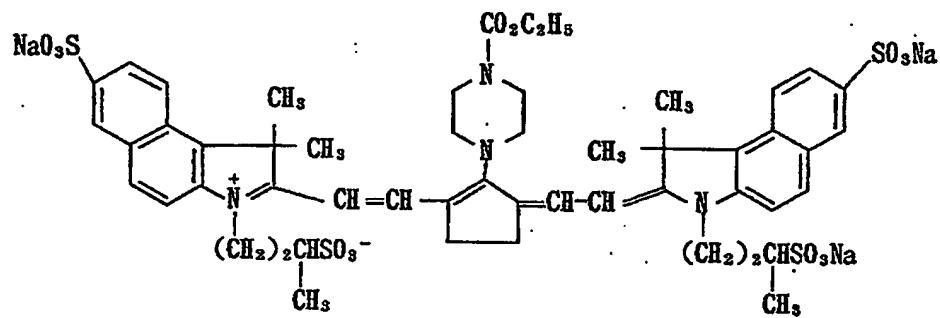
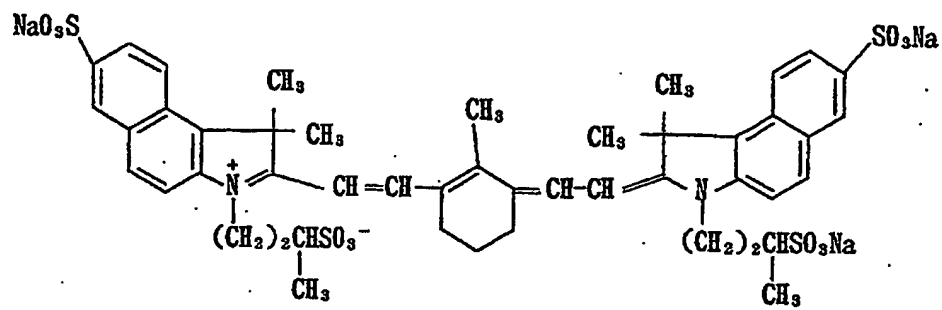
【0034】

【化 46】



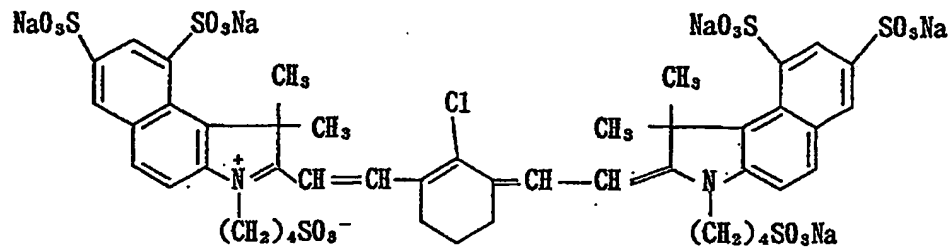
【0035】

【化 47】

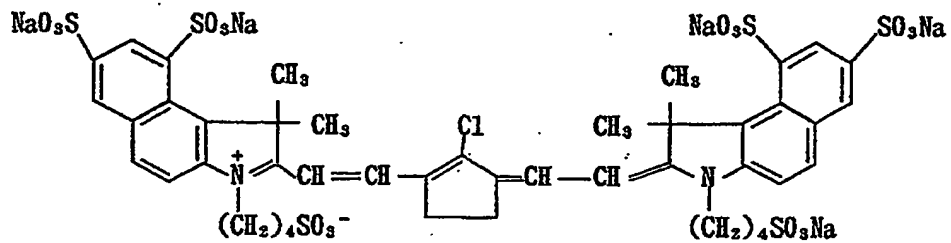


【0036】

【化 48】



および



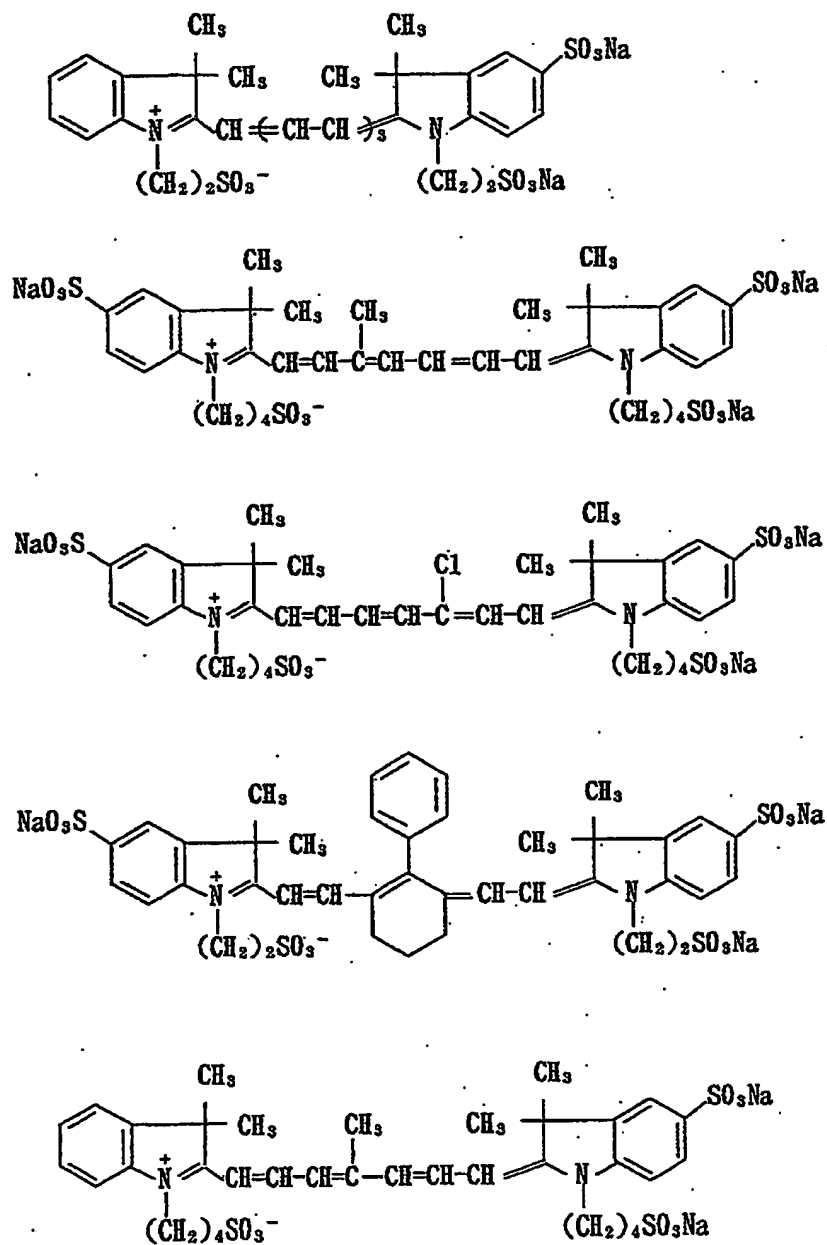
【0037】

からなる群より選ばれる少なくとも1つである上記（8）記載のナトリウム塩。

（22）下記化合物

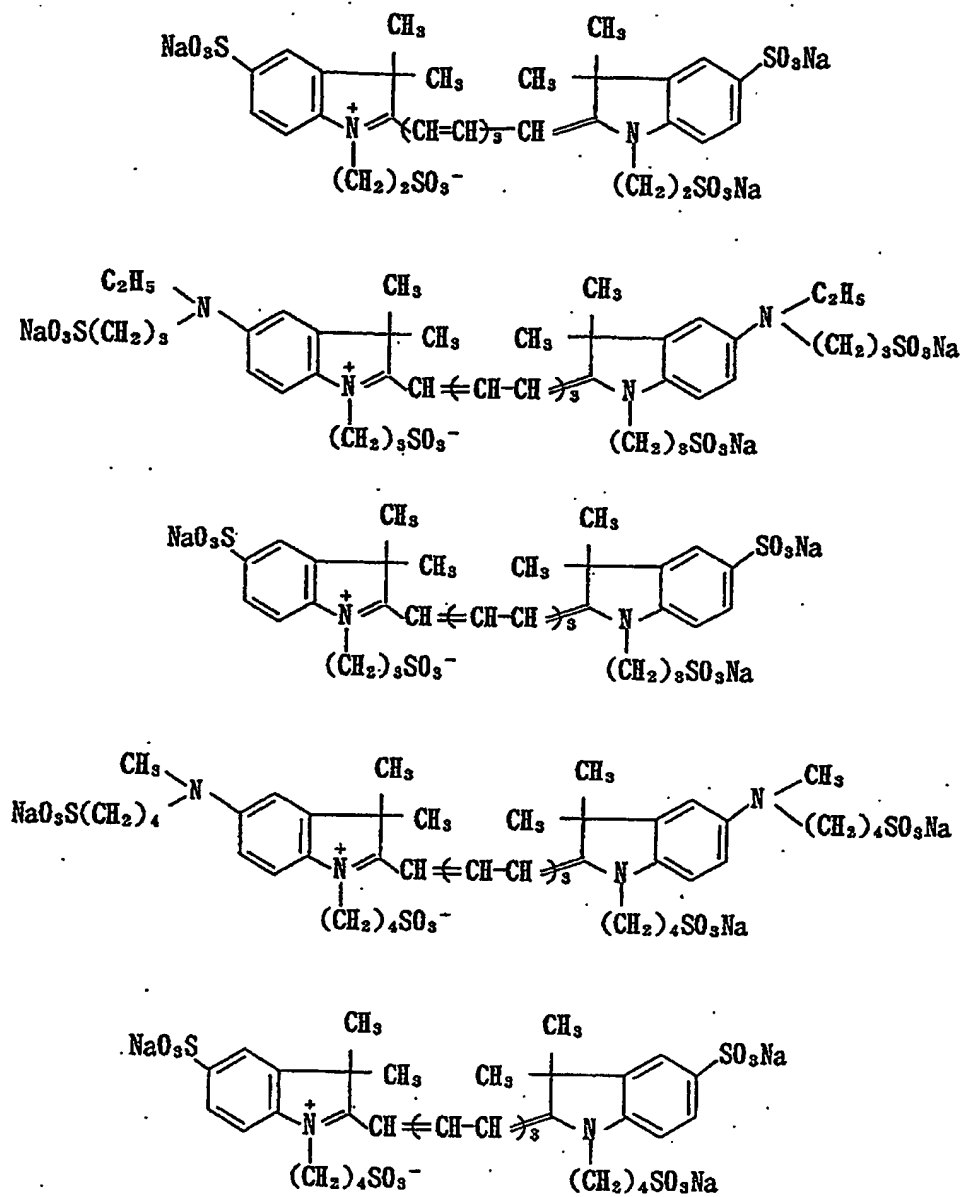
【0038】

【化 49】



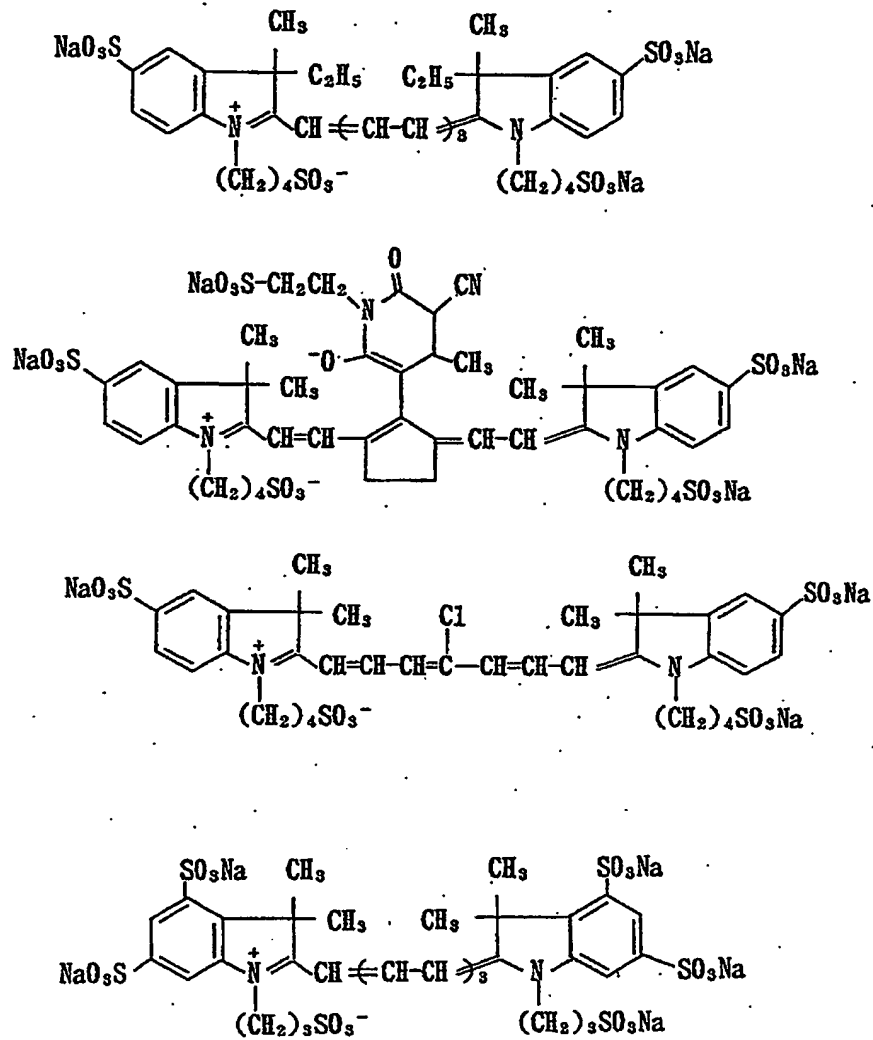
【0039】

【化 50】



【0040】

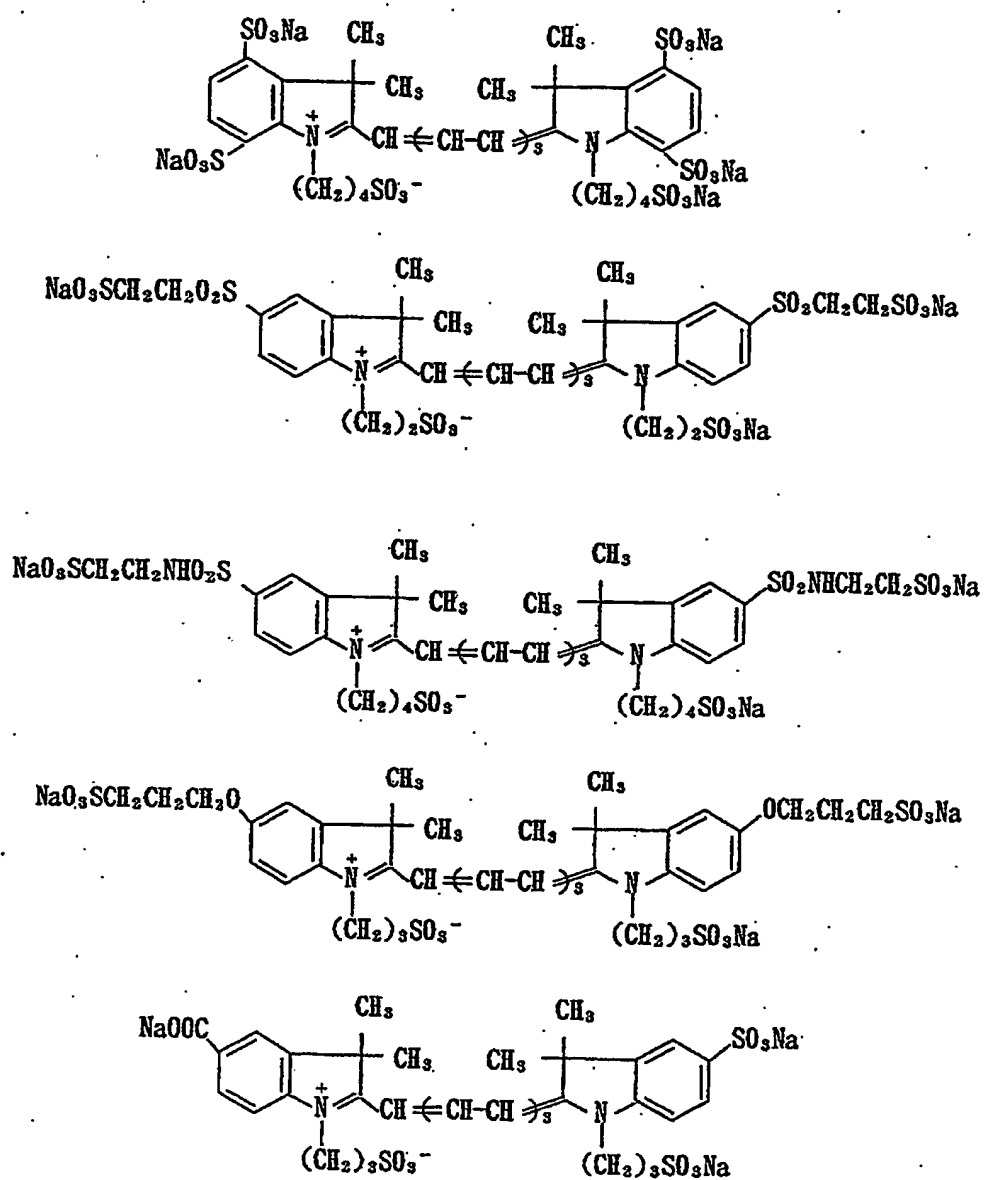
【化 5 1】



【0041】

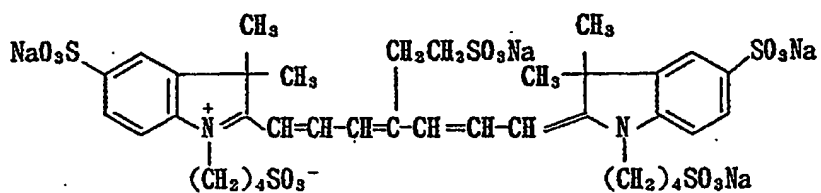
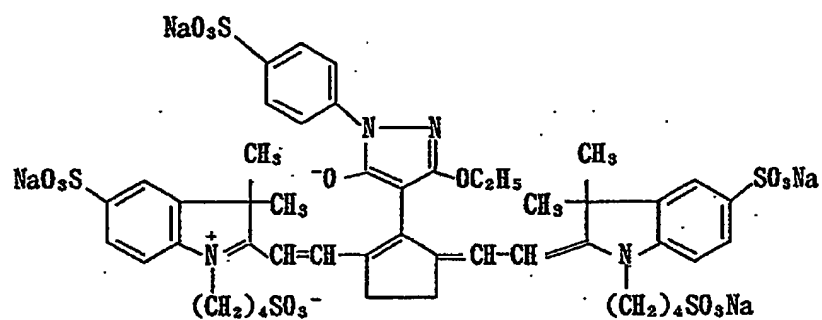
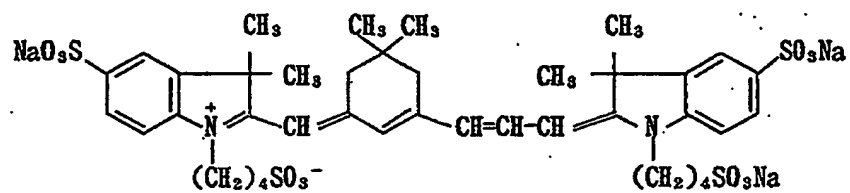
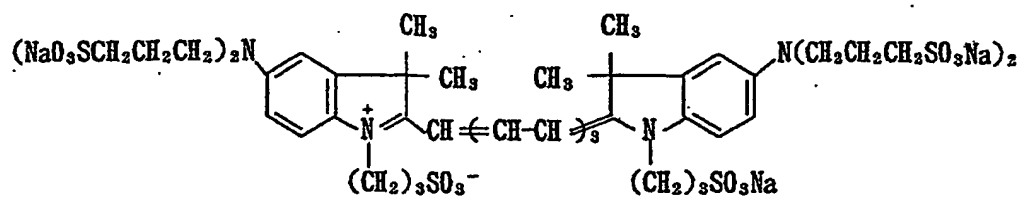


【化 5 2】



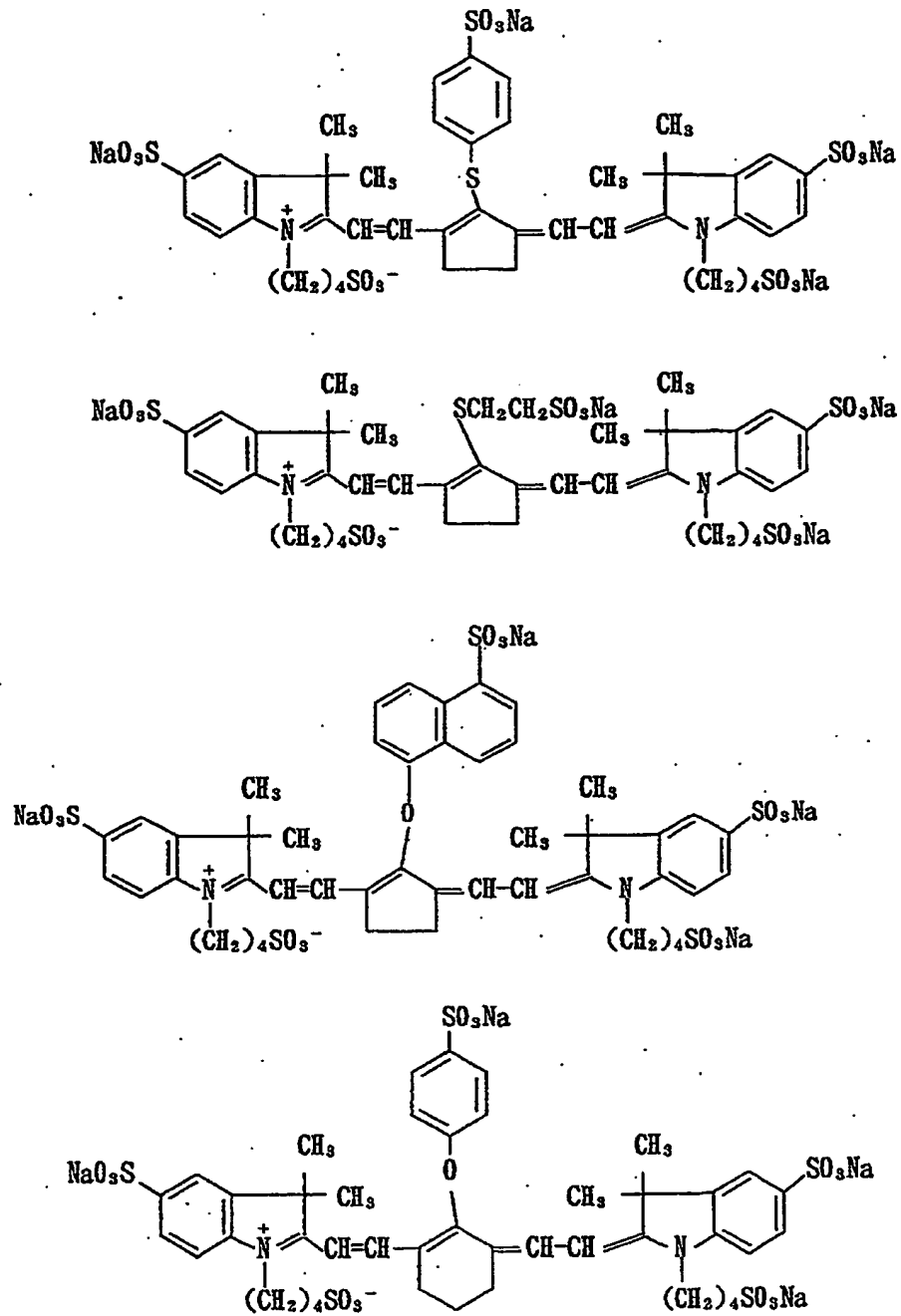
【0042】

【化 5 3】



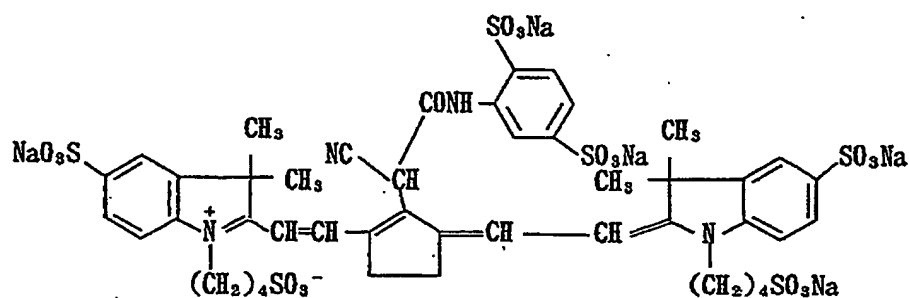
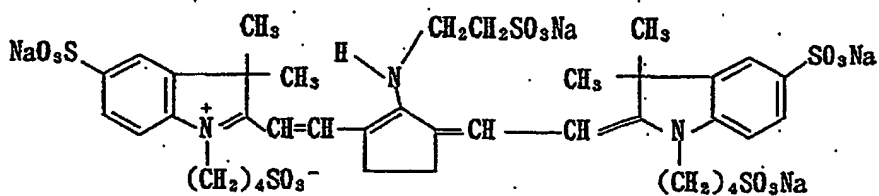
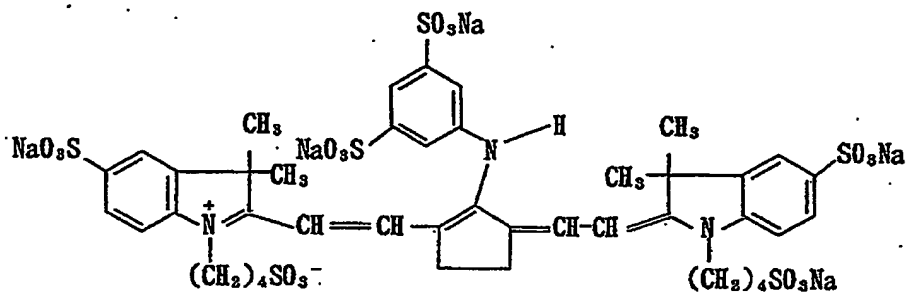
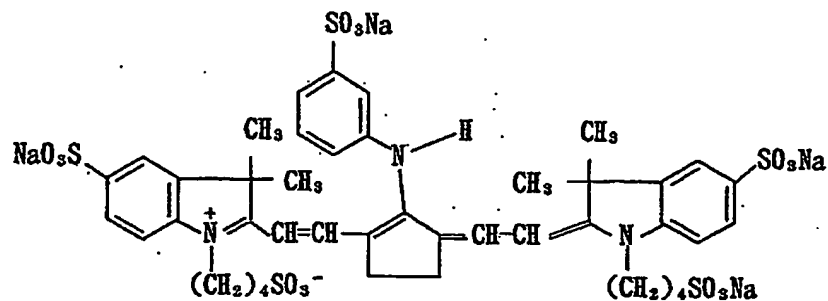
【0043】

【化 54】



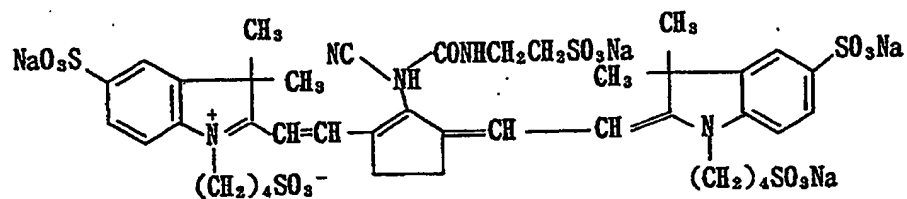
【0044】

【化 5 5】

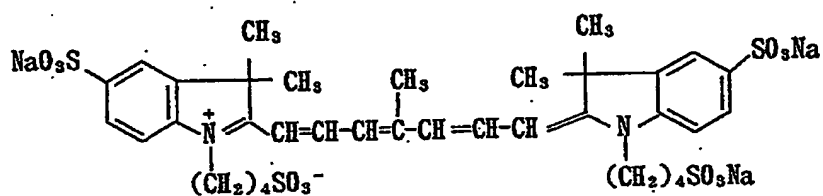


【0045】

【化 5 6】



および



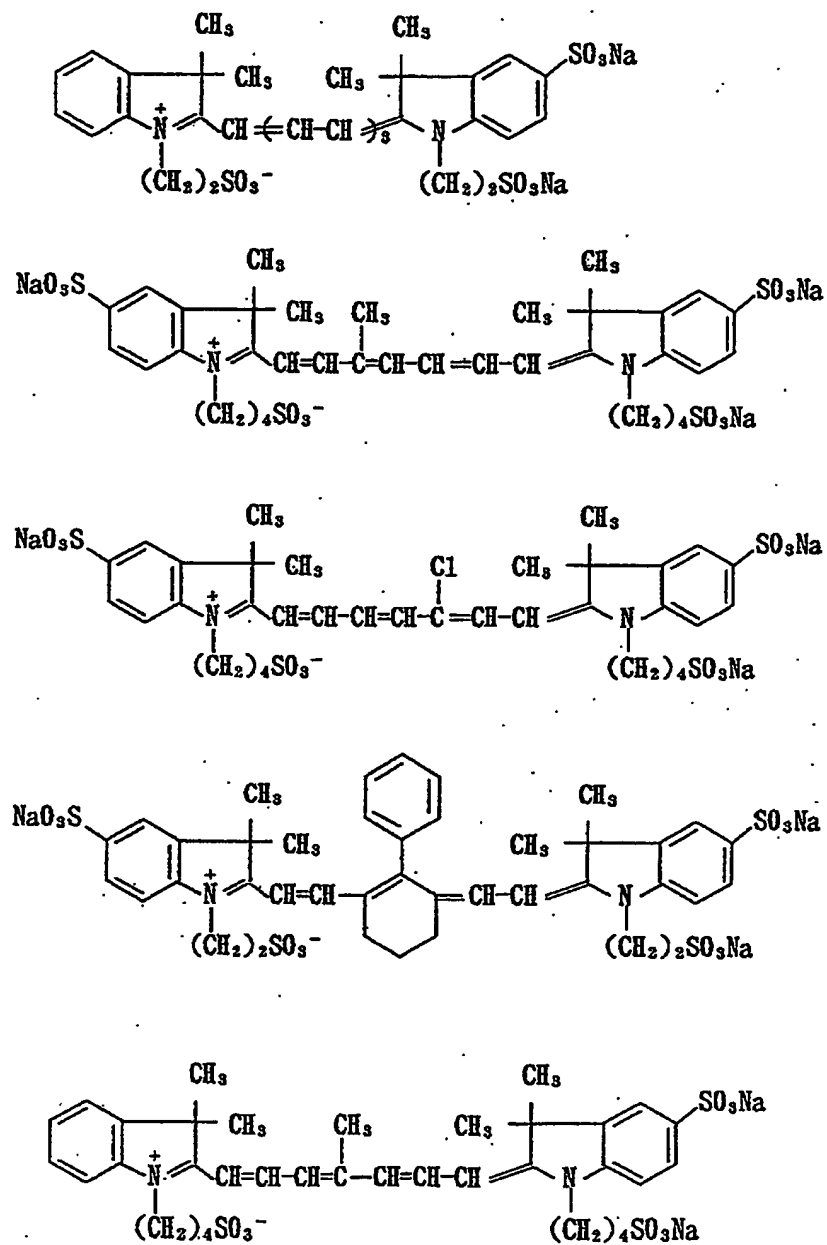
【0 0 4 6】

からなる群より選ばれる少なくとも1つである上記(11)記載のナトリウム塩

(23) 下記化合物

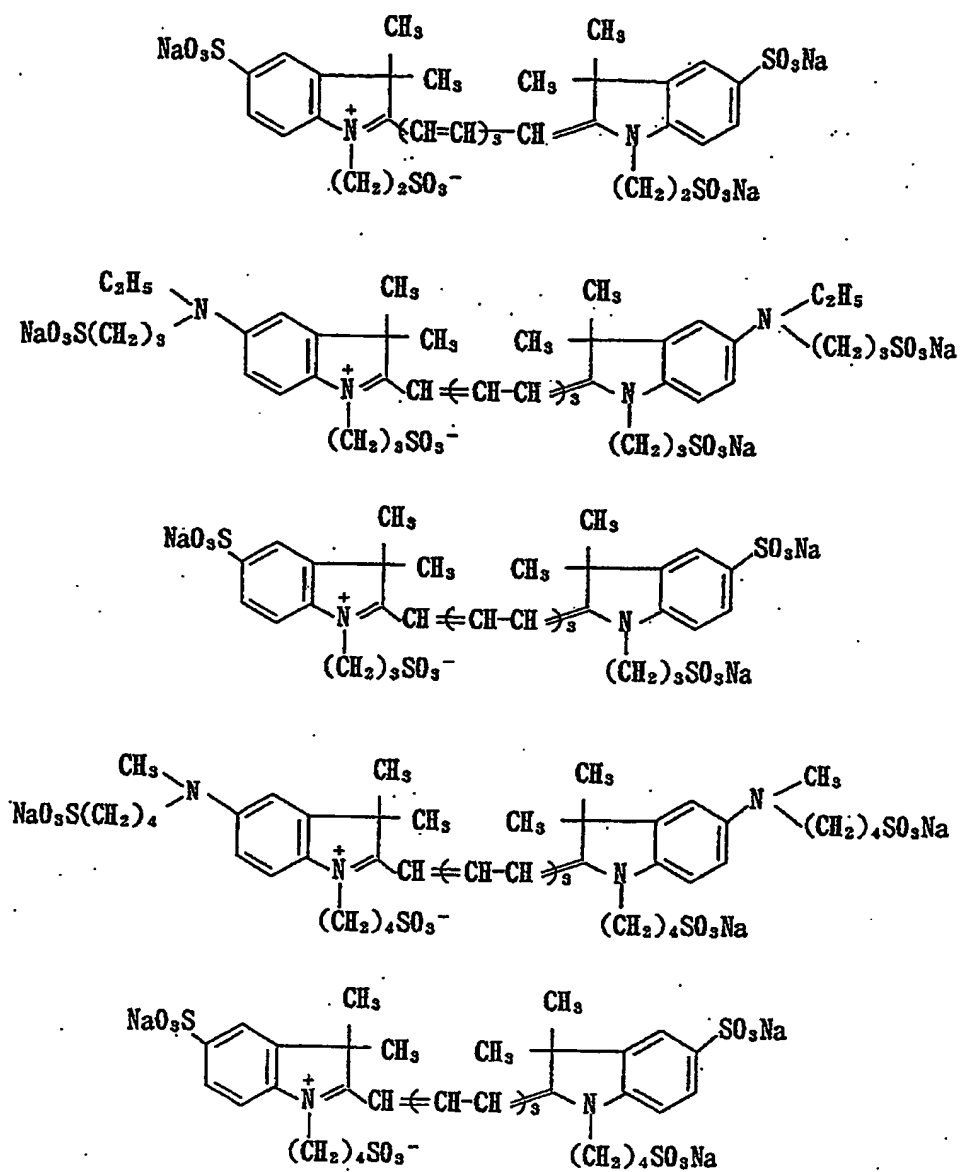
【0 0 4 7】

【化 57】



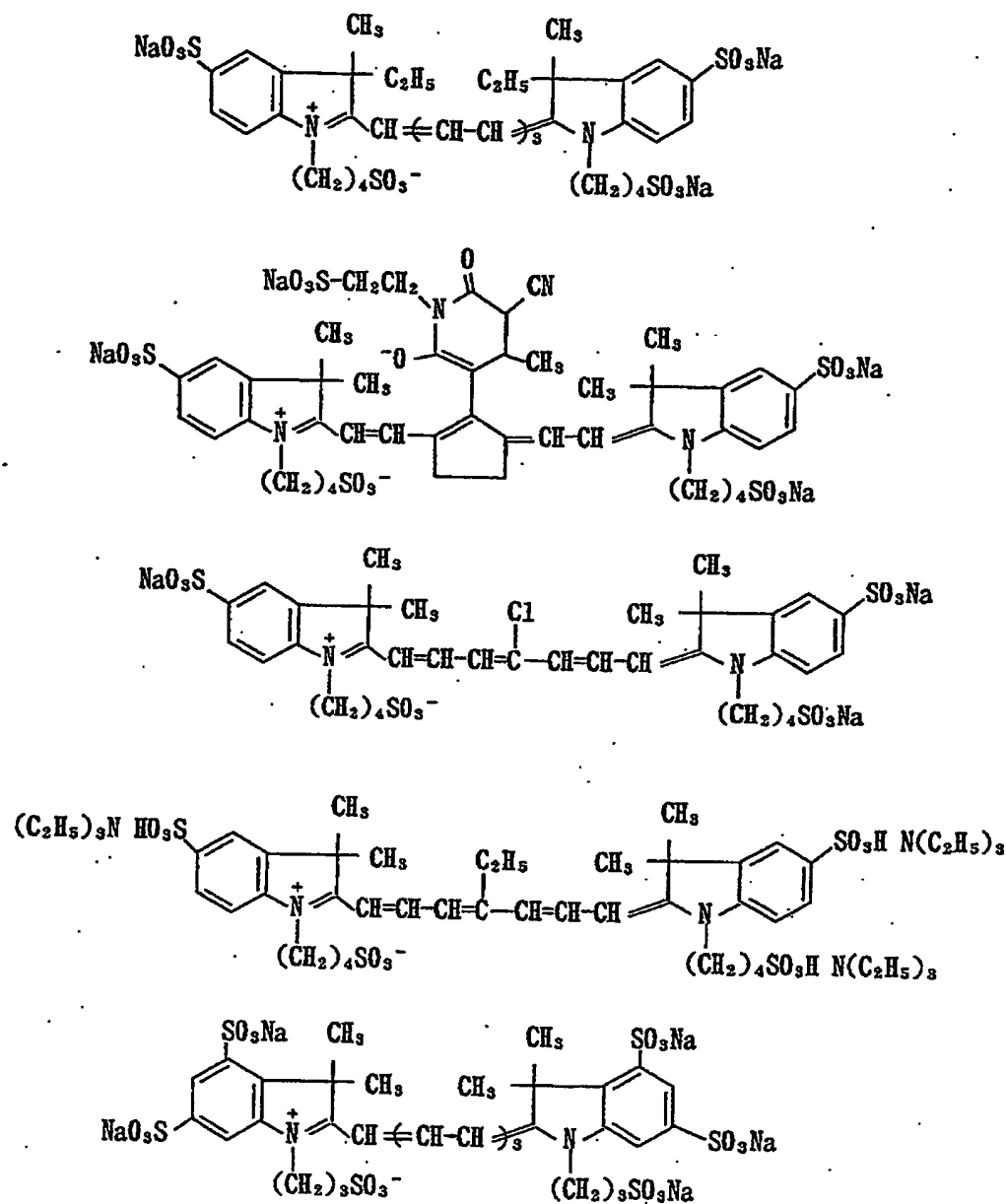
【0048】

【化 58】



【0049】

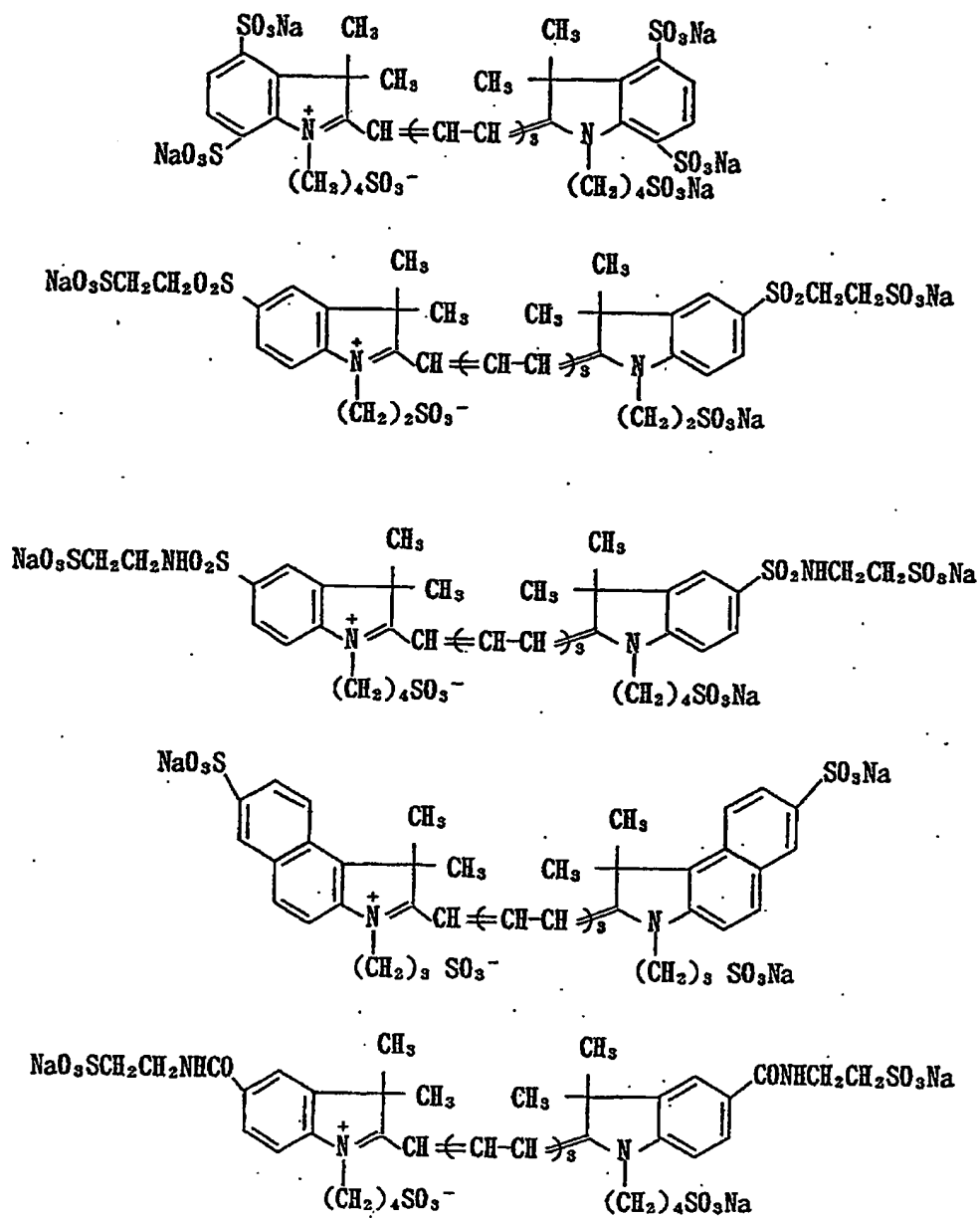
【化 59】



【0050】

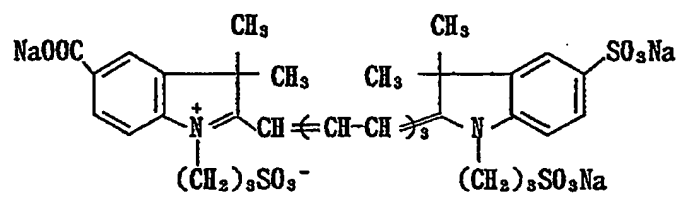
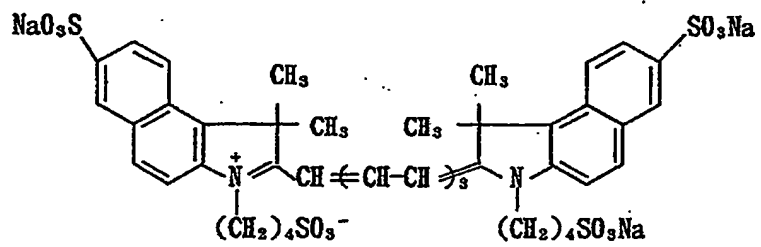
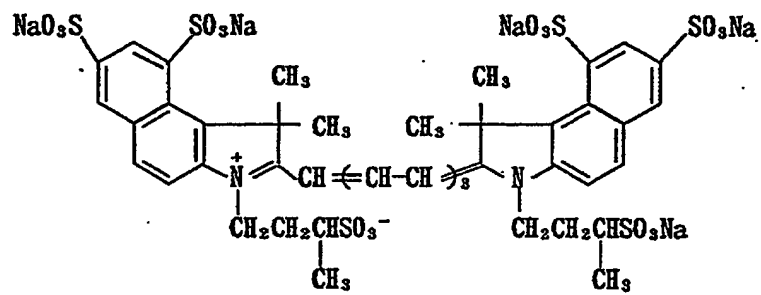
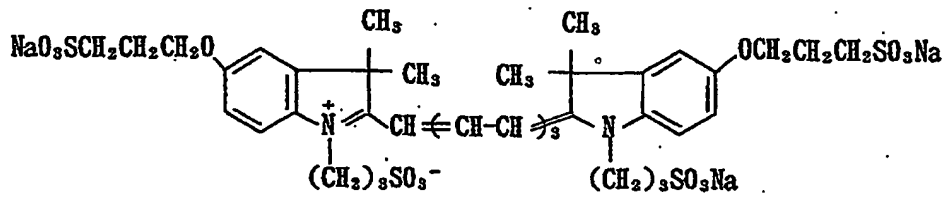


【化 60】



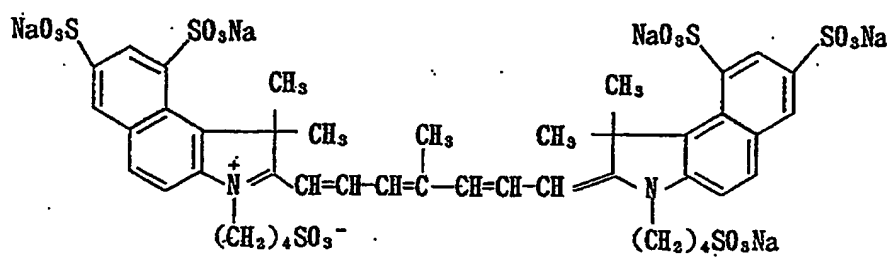
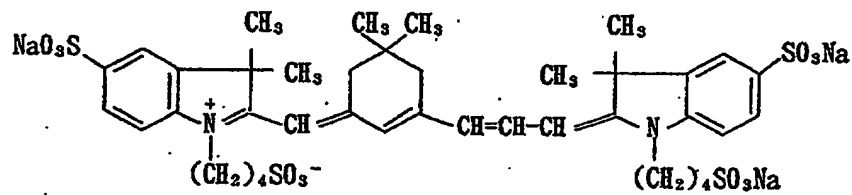
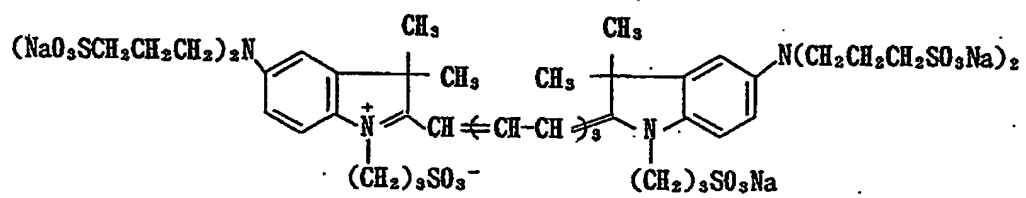
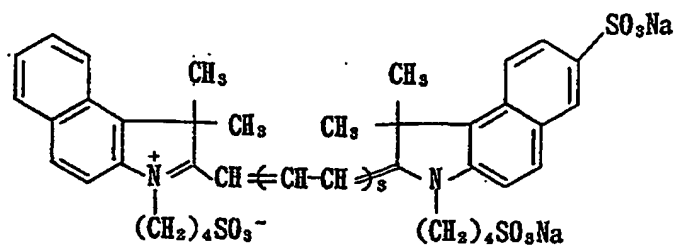
【0051】

【化 6 1】



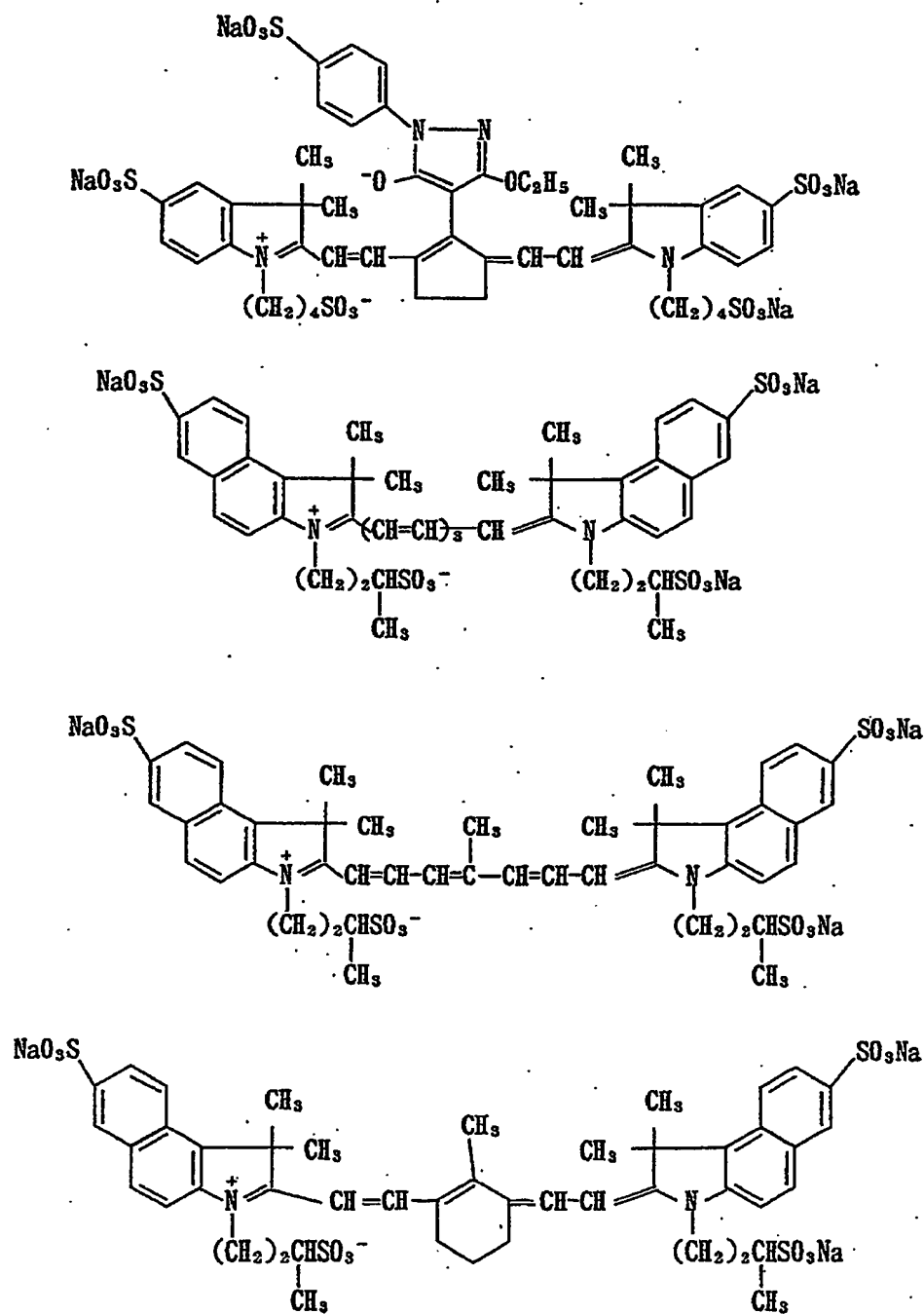
【0052】

【化 6 2】



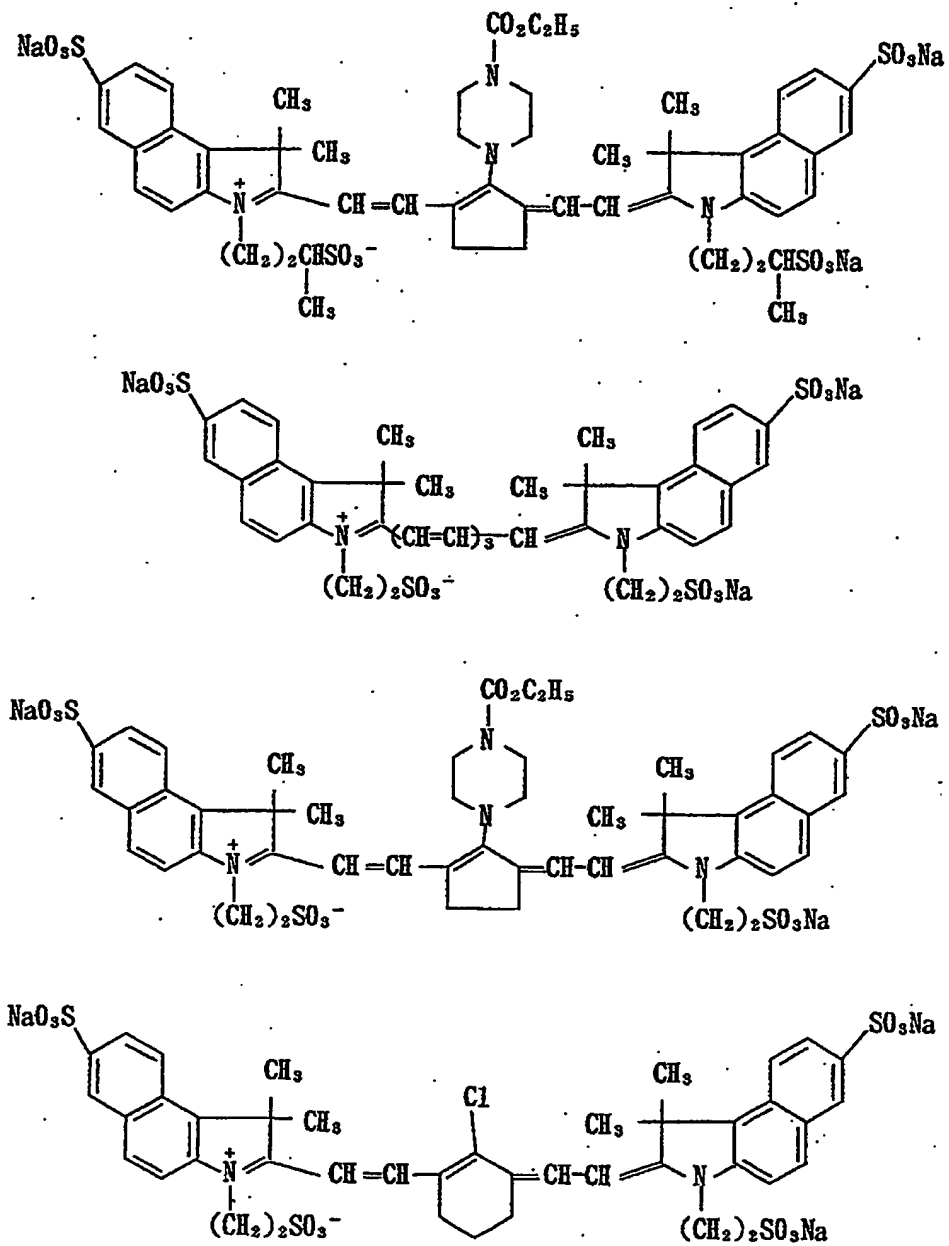
【0053】

【化 63】



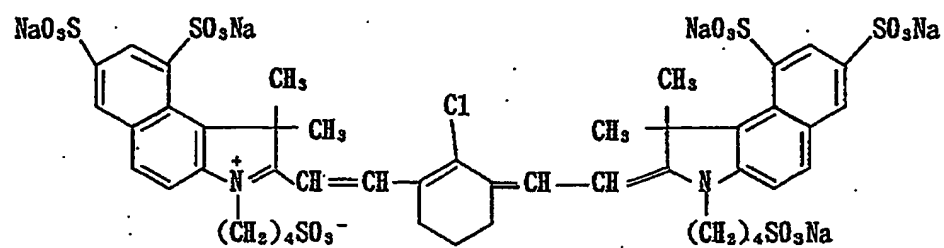
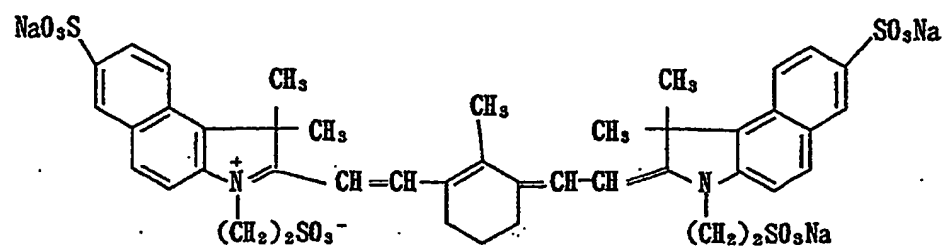
【0054】

【化 6 4】



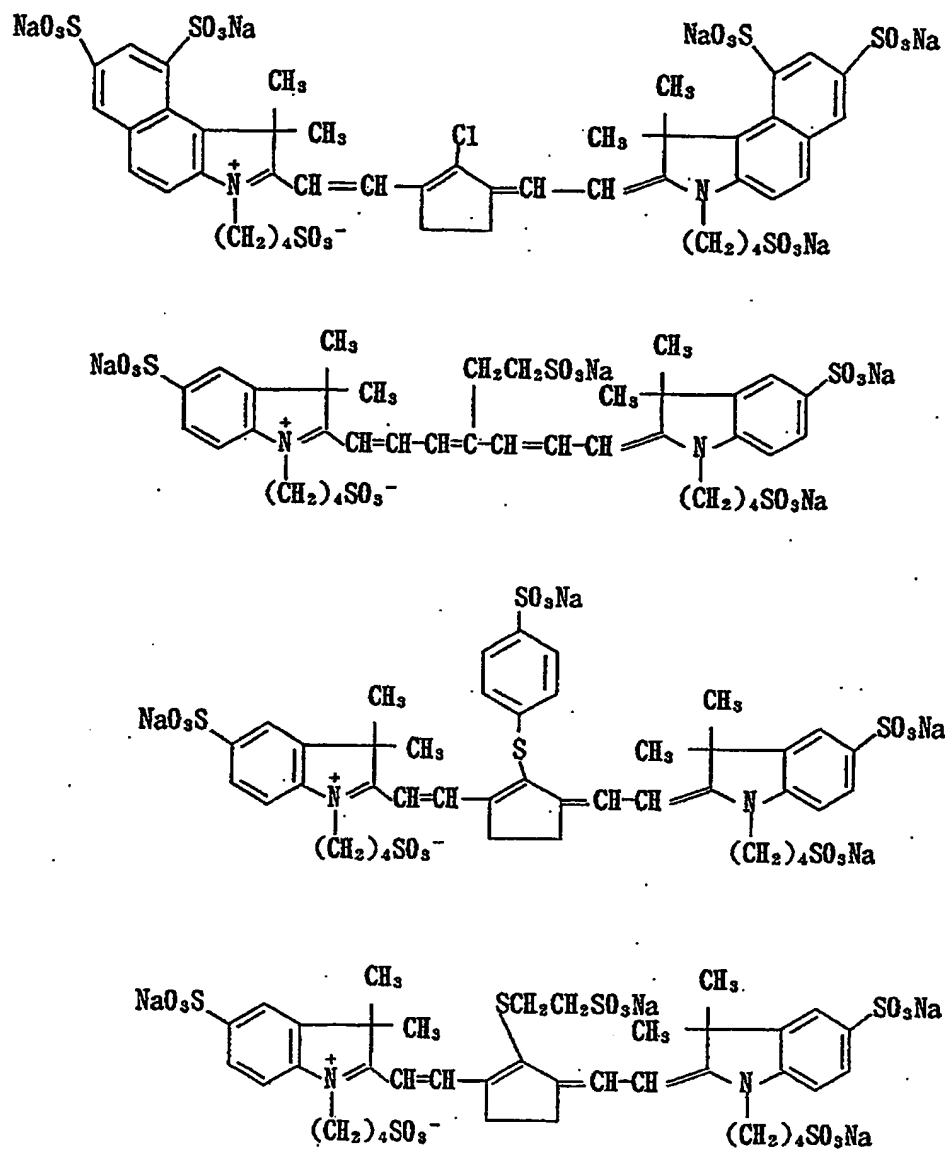
【0055】

【化 65】



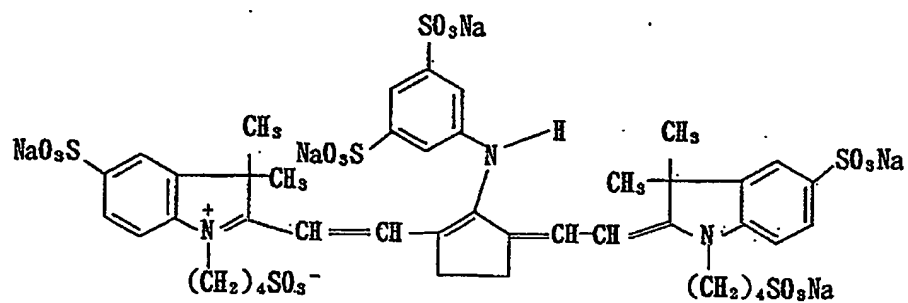
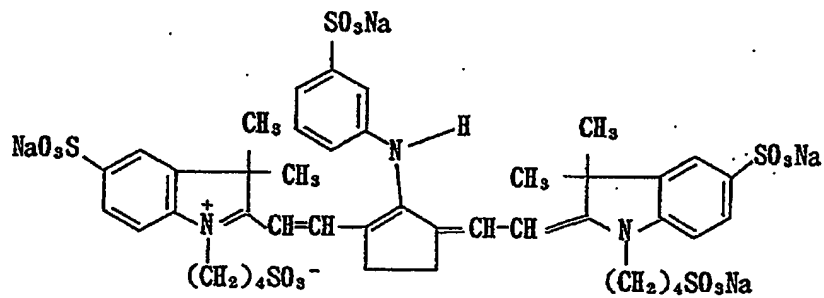
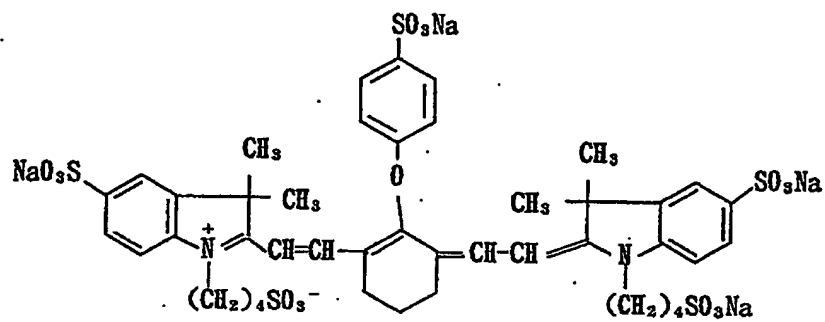
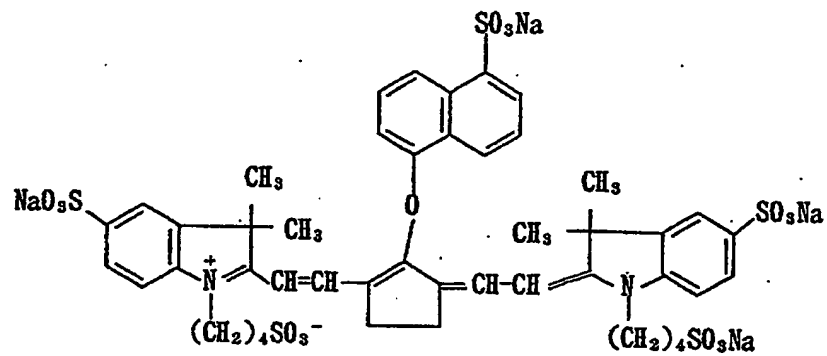
【0056】

【化 6 6】



【0057】

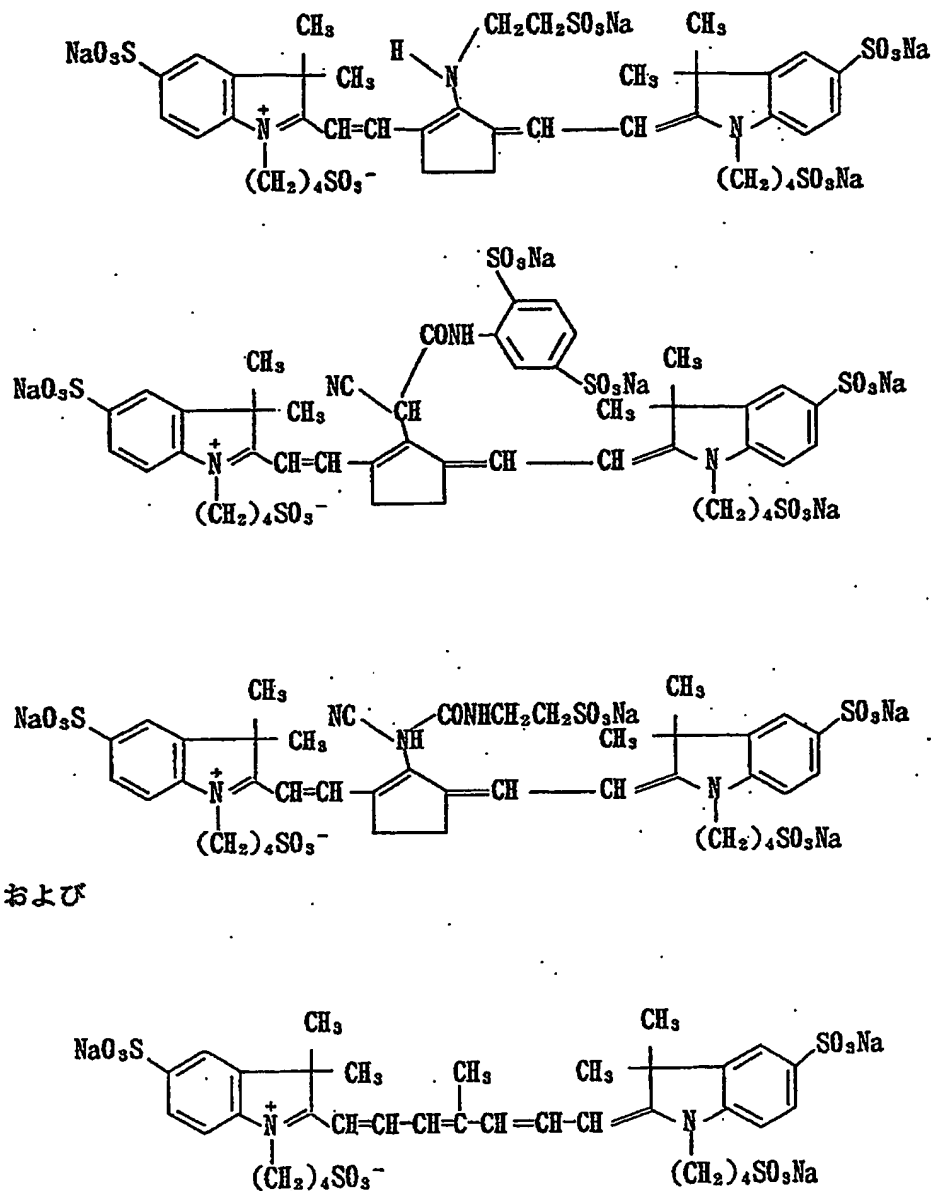
【化 67】



【0058】



【化68】



【0059】

からなる群より選ばれる少なくとも1つの化合物を含んでなる上記(1)記載の近赤外蛍光造影剤。

【0060】

本明細書中で使用されている各定義について以下に説明する。

本発明に係わる近赤外蛍光造影剤とは近赤外領域に蛍光を発する造影剤を意味する。

【0061】

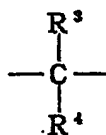
本発明において、スルホン酸基とは、当該スルホン酸基が分子内塩を形成するために使用される場合にはスルホナト基 ( $-\text{SO}_3^-$ ) を意味する場合もある。

【0062】

本発明において、好ましいXおよびYは、

【0063】

【化69】



【0064】

(式中、 $\text{R}^3$ 、 $\text{R}^4$  は同一または異なって置換または無置換のアルキル基を表す) である。

【0065】

$\text{R}^1$ 、 $\text{R}^2$ 、 $\text{R}^3$  および  $\text{R}^4$  で表される「置換または無置換のアルキル基」における「アルキル基」は、好ましくは炭素数1～5の直鎖状または分岐鎖状の低級アルキル基であり、具体的にはメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基、ペンチル基、イソペンチル基、ネオペンチル基、tert-ペンチル基、2-メチルプロピル基、1, 1-ジメチルプロピル基等が挙げられる。置換基としては例えばスルホン酸基、カルボキシ基、水酸基等を挙げることができる。置換されたアルキル基の具体的なものとしてはヒドロキシメチル基、1-ヒドロキシエチル基、2-ヒドロキシエチル基、2-ヒドロキシプロピル基、3-ヒドロキシプロピル基、4-ヒドロキシブチル基、カルボキシメチル基、カルボキシエチル基、

カルボキシブチル基、スルホメチル基、2-スルホエチル基、3-スルホプロピル基、4-スルホブチル基等が挙げられる。さらに好ましくは、 $R^1$  および  $R^2$  はスルホン酸基で置換されている炭素数 1～5 の低級アルキル基（例えば 2-スルホエチル基、3-スルホプロピル基、4-スルホブチル基等）を表し、 $R^3$  および  $R^4$  は無置換の炭素数 1～5 の低級アルキル基（例えばメチル基、エチル基等）を表す。

【0066】

$R^{17}$  および  $R^{18}$  で表される「無置換の炭素数 1～5 の低級アルキル基」としては、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  および  $R^4$  で表される「置換または無置換のアルキル基」における「アルキル基」と同様のものが挙げられる。

【0067】

$R^{19}$  および  $R^{20}$  で表される「スルホン酸基で置換されている炭素数 1～5 の低級アルキル基」における「アルキル基」としては  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  および  $R^4$  で表される「置換または無置換のアルキル基」における「アルキル基」と同様のものが挙げられ、置換された炭素数 1～5 の低級アルキル基としては具体的には、2-スルホエチル基、3-スルホプロピル基、4-スルホブチル基等が挙げられる。

【0068】

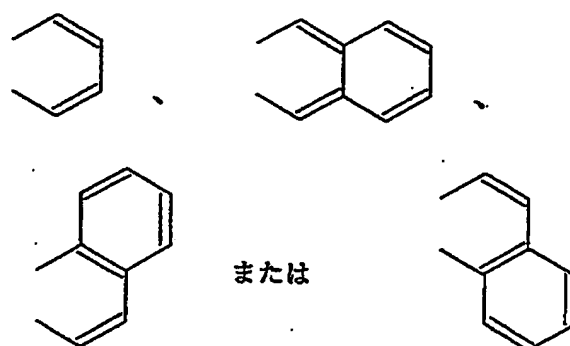
$R^{21}$ ～ $R^{28}$  で表されるアルキル（スルホアルキル）アミノ基、ビス（スルホアルキル）アミノ基、スルホアルコキシ基、（スルホアルキル）スルホニル基および（スルホアルキル）アミノスルホニル基における『アルキル部分』は、好ましくは炭素数 1～5 の直鎖状または分岐鎖状の低級アルキル基であり、具体的には  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  および  $R^4$  で表される「置換または無置換のアルキル基」における「アルキル基」と同様のものが挙げられる。

【0069】

本発明において、「置換または無置換のベンゾ縮合環あるいはナフト縮合環を形成するために必要な非金属原子群」とは、ベンゾ縮合環あるいはナフト縮合環を形成するために必要な以下の連結基、およびその置換基を意味する。

【0070】

【化70】



【0071】

(置換基を有するベンゾ縮合環あるいはナフト縮合環を形成する場合には、当該連結基は置換基を有する。)

具体的には、炭素原子、窒素原子、酸素原子、水素原子、硫黄原子、ハロゲン原子（フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子）等が挙げられる。

【0072】

$Z^1$ 、 $Z^2$  で表される非金属原子群によって形成されるベンゾ縮合環またはナフト縮合環の置換基としては、スルホン酸基、カルボキシル基、水酸基、ハロゲン原子（フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子）、シアノ基、置換アミノ基（例えばジメチルアミノ基、ジエチルアミノ基、エチル-4-スルホブチルアミノ基、ジ(3-スルホプロピル)アミノ基等）、または直接もしくは2価の連結基を介して環に結合した置換または無置換のアルキル基（前述と同義）等が挙げられる。2価の連結基としては例えば-O-、-NHCO-、-NH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>-、-NHCOO-、-NHCONH-、-COO-、-CO-、-SO<sub>2</sub>-等が好ましい。直接または2価の連結基を介して環に結合した置換または無置換のアルキル基におけるアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基が、置換基として好ましくはスルホン酸基、カルボキシル基、水酸

基がそれぞれ挙げられる。

【0073】

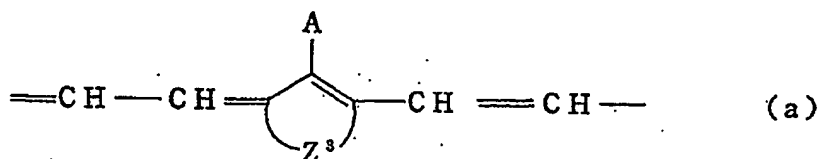
$L^1 \sim L^7$  で表されるメチン基の置換基としては、置換または無置換のアルキル基（前述と同義）、ハロゲン原子（前述と同義）、置換または無置換のアリール基、低級アルコキシ基等が挙げられる。ここで「置換または無置換のアリール基」における「アリール基」としては具体的にはフェニル基、ナフチル等が挙げられ、好ましくはフェニル基であり、置換基としてはハロゲン原子（前述と同義、より好ましくは塩素原子）等が挙げられる。置換されたアリール基としては具体的には4-クロルフェニル基等が挙げられる。低級アルコキシ基とは、好ましくは炭素数1～6のアルコキシであり、直鎖状または分岐鎖状のいずれでもよく、具体的にはメトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基、ブトキシ基、tert-ブトキシ基、ペンチルオキシ基等が挙げられ、好ましくはメトキシ基、エトキシ基である。また、 $L^1 \sim L^7$  で表されるメチン基の置換基どうしが結合して3つのメチン基を含む環を形成してもよく、この環はさらに他のメチン基を含む環と縮合環を形成してもよい。 $L^1 \sim L^7$  で表されるメチン基の置換基どうしが結合して形成される3つのメチン基を含む環としては、具体的には4,4-ジメチルシクロヘキセン環等が挙げられる。

【0074】

$L^1 \sim L^7$  で表される基から構成される共役メチン鎖に環を含むものとして特に好ましいものは下記一般式（a）で表される基である。

【0075】

【化71】



【0076】

〔式中、 $Z^3$  は、5または6員環を形成するのに必要な非金属原子群を表し、Aは水素原子または1価の基を表す。〕

当該5または6員環を形成するのに必要な非金属原子群としては上述のものが挙げられる。

【0077】

一般式(a)、ならびに後述する一般式【III-2】における $Z^3$ で表される5または6員環の例としては、シクロペンテン環、シクロヘキセン環および4,4-ジメチルシクロヘキセン環等を挙げることができ、本発明において特に好ましくはシクロペンテン環である。

【0078】

Aで表される1価の基としては、置換または無置換のアルキル基(前述と同義)、置換または無置換のアリール基(前述と同義)、置換または無置換のアラルキル基、低級アルコキシ基(前述と同義)、置換されていてもよい置換アミノ基、アルキルカルボニルオキシ基(アセトキシ基等)、置換または無置換のアルキルチオ基、置換または無置換のアリールチオ基、シアノ基、ニトロ基、ハロゲン原子(前述と同義)等が挙げられる。ここで「置換または無置換のアラルキル基」における「アラルキル基」としては、具体的にはベンジル基、2-フェニルエチル基、1-フェニルエチル基、3-フェニルプロピル基等が挙げられ、置換基としてはスルホン酸基、カルボキシル基、水酸基、置換または無置換のアルキル基(前述と同義)、アルコキシ基(前述と同義)、ハロゲン原子(前述と同義)等が挙げられる。「置換されていてもよい置換アミノ基」における「置換アミノ基」とは具体的にはアルキルアミノ基(メチルアミノ基、エチルアミノ基等)、ジアルキルアミノ基(ジメチルアミノ基、ジエチルアミノ基等)、ジフェニルアミノ基、メチルフェニルアミノ基、環状アミノ基(モルフォリノ基、イミダゾリジノ基、エトキシカルボニルピペラジノ基等)等が挙げられ、置換基としてはスルホン酸基、カルボキシル基等が挙げられる。「置換または無置換のアルキルチオ基」における「アルキルチオ基」としては、具体的にはメチルチオ基、エチルチオ基等が挙げられ、置換基としてはスルホン酸基、カルボキシル基等が挙げられる。「置換または無置換のアリールチオ基」における「アリールチオ基」としては、具体的にはフェニルチオ基、ナフチルチオ基等が挙げられ、置換基としてはスルホン酸基、カルボキシル基等が挙げられる。

【0079】

Aで表される1価の基として好ましくはフッ素原子、塩素原子、ジアルキルアミノ基（当該ジアルキルアミノ基の炭素数は6以下が好ましく環を形成していてもよい）、モルフォリノ基である。さらにAはスルホン酸基を有するものであることが特に好ましい。

【0080】

一般式〔I〕においては、rは1のものが好ましい。

【0081】

「医薬上許容しうる塩」とは一般式〔I〕で示される化合物と無毒性の塩を形成するものであればいかなるものであってもよく、例えばナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩；マグネシウム塩、カルシウム塩等のアルカリ土類金属塩；アンモニウム塩、トリエチルアンモニウム塩、トリブチルアンモニウム塩、ピリジニウム塩等の有機アンモニウム塩；リジン塩、アルギニン塩等のアミノ酸塩等を挙げることができる。特に好ましくは、生体に対してより毒性の軽減されたナトリウム塩である。

【0082】

蛍光造影剤を生物体内で使用する際に、特に必要な特性として水溶性であることが挙げられるが、本発明の近赤外蛍光造影剤においては当該化合物中にスルホン酸基を3個以上導入することにより水溶性において顕著な改善効果がみられる。水溶性においてスルホン酸基の数は好ましくは4個以上である。また、合成の容易性といった観点からはスルホン酸基の数は10個以下、好ましくは8個以下であることが例示される。水溶性の向上は各化合物の分配係数（例えばブタノール／水の二相系等において測定される）を測定することにより確認できる。より具体的には、スルホン酸基を3個以上導入することにより、n-ブタノール／水の分配係数  $\log P_o/w$  が-1.00以下となる。

【0083】

特にスルホン酸基は、一般式〔I〕においては $R^1$ 、 $R^2$ 、 $Z^1$  および／または $Z^2$  の位置に、一般式〔II〕においては $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^7$ 、 $R^{11}$  および／または $R^{13}$  の位置に導入されることが好ましい。

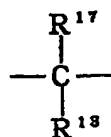
さらに、当該スルホン酸基は、共役メチン鎖の  $L^4$  にアルキレン基等の 2 価の基を介して、上記式 (a) の A の位置に導入することも好適に行われる。

【0084】

前記一般式 [I I] で表され、且つスルホン酸基を分子内に 3 個以上有する化合物のナトリウム塩において、 $R^1$  および  $R^2$  がスルホン酸基で置換されている炭素数 1~5 の低級アルキル基であり、且つ X および Y が同一または異なって

【0085】

【化 7 2】

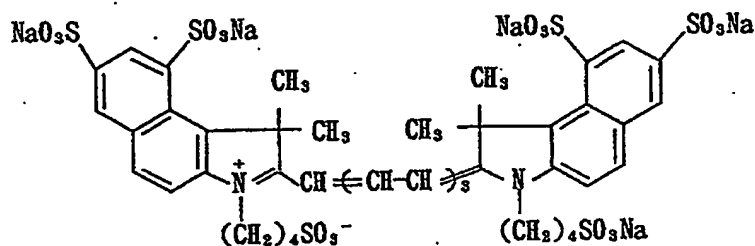


【0086】

(式中、 $R^{17}$  および  $R^{18}$  は無置換の炭素数 1~5 の低級アルキル基を表す) であり、且つスルホン酸基を分子内に 3 個以上有する化合物のナトリウム塩が望ましく、その中で、

【0087】

【化 7 3】



【0088】

で表される化合物が更に望ましい。

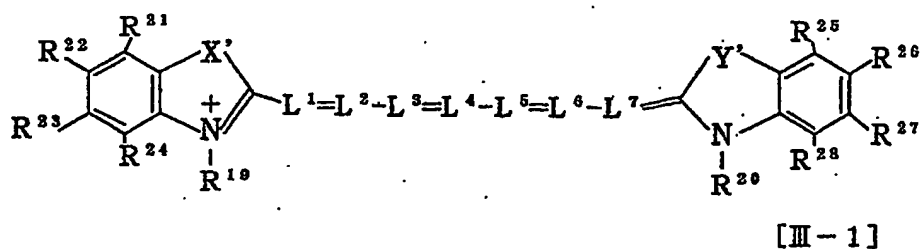
【0089】

前記一般式 [I] で表され、且つスルホン酸基を分子内に 3 個以上有する化合物またはその医薬上許容し得る塩において、下記一般式 [I I I - 1]

【0090】



【化 74】

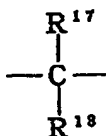


【0091】

〔式中、 $L^1 \sim L^7$  は前述と同義であり、 $R^{19}$  および  $R^{20}$  はスルホン酸基で置換されている炭素数 1～5 の低級アルキル基を表し、 $R^{21} \sim R^{28}$  は同一または異なって、水素原子、スルホン酸基、カルボキシ基、水酸基、アルキル（スルホアルキル）アミノ基、ビス（スルホアルキル）アミノ基、スルホアルコキシ基、（スルホアルキル）スルホニル基または（スルホアルキル）アミノスルホニル基を表し、 $X'$  および  $Y'$  は同一または異なって

【0092】

【化 75】

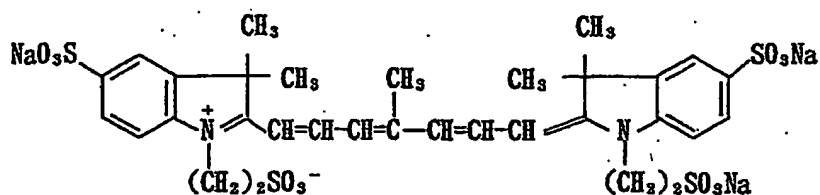


【0093】

（式中、 $R^{17}$  および  $R^{18}$  は前述と同義）を表す〕で表され、且つスルホン酸基を分子内に 3 個以上有する化合物のナトリウム塩が望ましく、その中で下記式

【0094】

【化 76】



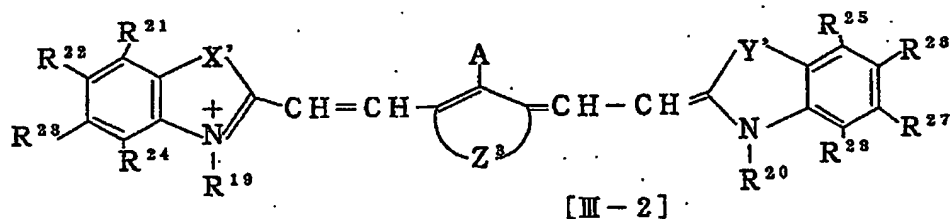
【0095】

で表される化合物が更に好ましい。

また、前記一般式【III-1】で表され、且つスルホン酸基を分子内に3個以上有する化合物のナトリウム塩において、下記一般式【III-2】

【0096】

【化 77】

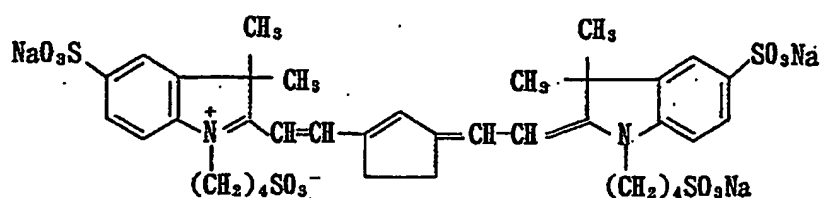


【0097】

(式中、 $R^{19} \sim R^{28}$ 、 $X'$  および  $Y'$  は前述と同義であり、 $Z^3$  は5または6員環を形成するのに必要な非金属原子群を表し、 $A$  は水素原子または1価の基を表す) で表され、且つスルホン酸基を分子内に3個以上有する化合物のナトリウム塩も望ましく、その中で、下記式

【0098】

【化 78】



【0099】

で表される化合物が更に望ましい。

【0100】

本発明に係わる近赤外蛍光造影剤に含められる化合物は、一般式〔I〕または一般式〔II〕で表される化合物であって、その分子中にスルホン酸基を3個以上、好ましくは4個以上有するものであれば特に限定されない。当該化合物は、F.M. Hamer in The Cyanine Dyes and Related Compounds, John Wiley and Sons, New York, 1964、Cytometry, 10 (1989) 3-10、Cytometry, 11 (1990) 418-430、Cytometry, 12 (1990) 723-730、Bioconjugate Chem. 4 (1993) 105-111、Anal. Biochem. 217 (1994) 197-204、Tetrahedron 45 (1989) 4845-4866、欧州特許出願明細書0591820A1、欧州特許出願明細書0580145A1等に記載されている公知のシアニン系化合物の製造方法に準じて合成することができ、さらに、市販のシアニン系化合物から適宜公知の手法により半合成することもできる。より具体的には、ジアニル化合物とヘテロ環4級塩との反応により合成することができる。

【0101】

本発明の一般式〔I〕で表される化合物は例えば以下の方法により合成され得る。

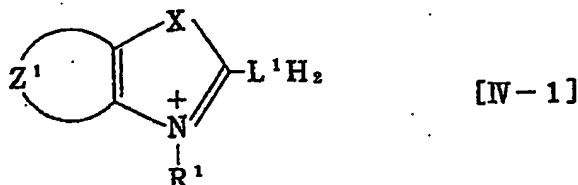
(i)  $r = 0$  の場合

(ア)  $L^1 = L^5$ 、 $X = Y$ 、 $R^1 = R^2$  且つ  $Z^1 = Z^2$  の時

一般式〔IV-1〕

【0102】

【化79】

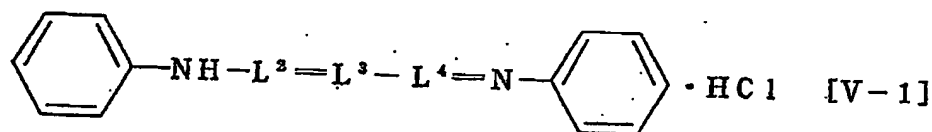


【0103】

(式中、 $L^1$ 、 $X$ 、 $Z^1$  および  $R^1$  は前述の通りである) で表されるヘテロ環4級塩化合物2モルに対して、一般式【V-1】

【0104】

【化80】

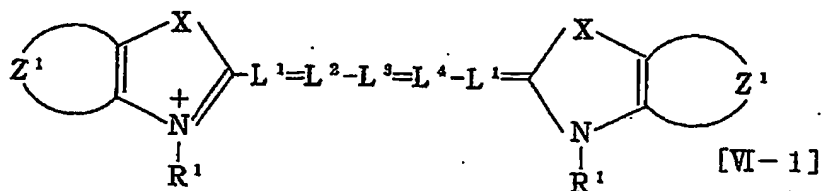


【0105】

(式中、 $L^2$ 、 $L^3$  および  $L^4$  は前述の通りである) で表されるジアニル化合物1モルを、塩基物質および溶媒の存在下に反応させ、一般式【VI-1】

【0106】

【化81】



【0107】

(式中、 $L^1$ 、 $L^2$ 、 $L^3$ 、 $L^4$ 、 $R^1$ 、 $Z^1$  および  $X$  は前述の通りである) で表される化合物を得、さらに当該一般式【VI-1】で表される化合物1モルと一般式【VII】

$T^1 - Na [VII]$  (式中、 $T^1$  は有機酸残基を表す)

で表される化合物の必要モル数を反応させることにより、前記一般式 [VI-1] で表される化合物のナトリウム塩が得られる。

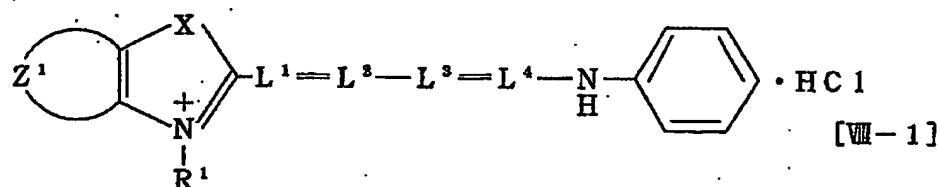
【0108】

(イ)  $L^1 \neq L^5$  または  $X \neq Y$  または  $R^1 \neq R^2$  または  $Z^1 \neq Z^2$  の時

前記一般式 [IV-1] で表されるヘテロ環4級塩化合物1モルに対して前記一般式 [V-1] で表されるジアニル化合物1モルとを塩基性物質および溶媒の存在下に反応させ、一般式 [VIII-1]

【0109】

【化82】

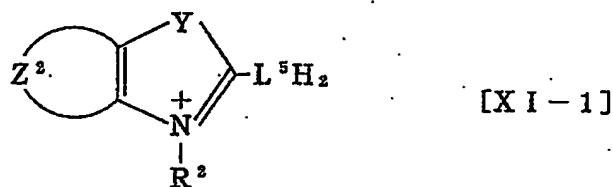


【0110】

(式中、 $L^1$ 、 $L^2$ 、 $L^3$ 、 $L^4$ 、 $R^1$ 、 $Z^1$  および  $X$  は前述の通りである) で表される化合物を得、さらに当該一般式 [VIII-1] で表される化合物1モルに対して、一般式 [XI-1]

【0111】

【化83】

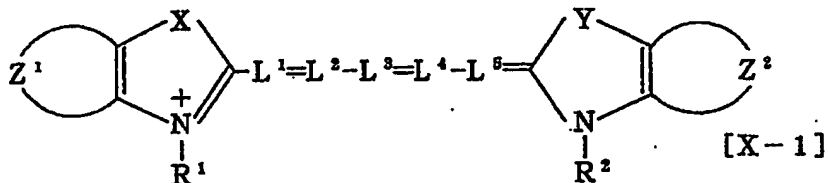


【0112】

(式中、 $L^5$ 、 $Y$ 、 $Z^2$  および  $R^2$  は前述の通りである) で表されるヘテロ環4級塩化合物1モルとを反応させ、一般式 [X-1]

【0113】

【化84】



【0114】

(式中、 $L^1$ 、 $L^2$ 、 $L^3$ 、 $L^4$ 、 $L^5$ 、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $Z^1$ 、 $Z^2$ 、XおよびYは前述の通りである)で表される化合物を得、更に当該一般式〔X-1〕で表される化合物1モルと前記一般式〔VII〕で表される化合物の必要モル数を反応させることにより、前記一般式〔X-1〕で表される化合物のナトリウム塩が得られる。

【0115】

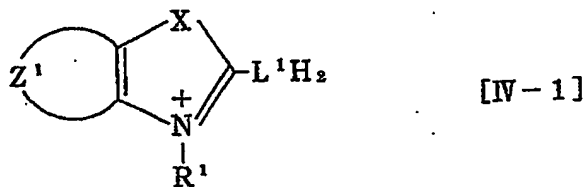
(ii)  $r=1$ の場合

(ア)  $L^1=L^7$ 、 $X=Y$ 、 $R^1=R^2$  且つ  $Z^1=Z^2$  の時

一般式〔IV-1〕

【0116】

【化85】



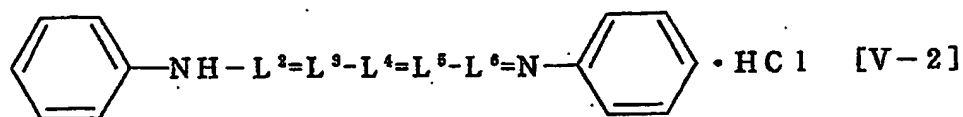
【0117】

(式中、 $L^1$ 、X、 $Z^1$  および  $R^1$  は前述の通りである)で表されるヘテロ環4

級塩化合物 2 モルに対して、一般式〔V-2〕

〔0118〕

〔化86〕

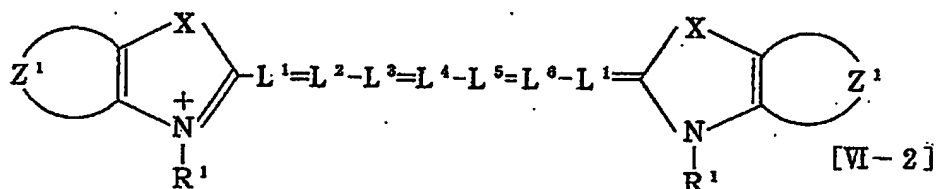


〔0119〕

(式中、 $\text{L}^2$ 、 $\text{L}^3$ 、 $\text{L}^4$ 、 $\text{L}^5$  および  $\text{L}^6$  は前述の通りである) で表されるジアニル化合物 1 モルを、塩基物質および溶媒の存在下に反応させ、一般式〔VI-2〕

〔0120〕

〔化87〕



〔0121〕

(式中、 $\text{L}^1$ 、 $\text{L}^2$ 、 $\text{L}^3$ 、 $\text{L}^4$ 、 $\text{L}^5$ 、 $\text{L}^6$ 、 $\text{R}^1$ 、 $\text{Z}^1$  および  $\text{X}$  は前述の通りである) で表される化合物を得、さらに当該一般式〔VI-2〕で表される化合物 1 モルと一般式〔VII〕

$\text{T}^1\text{--Na} \quad [\text{VII}]$  (式中、 $\text{T}^1$  は前述の通り)

で表される化合物の必要モル数を反応させることにより、前記一般式〔VI-2〕で表される化合物のナトリウム塩が得られる。

〔0122〕

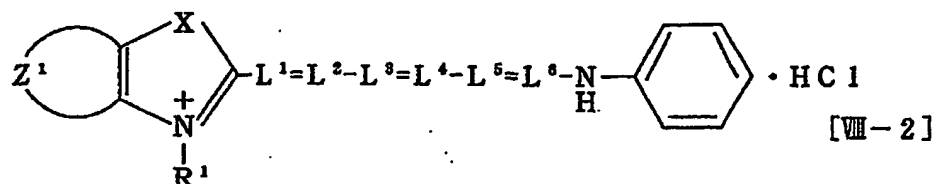
(イ)  $\text{L}^1 \neq \text{L}^7$  または  $\text{X} \neq \text{Y}$  または  $\text{R}^1 \neq \text{R}^2$  または  $\text{Z}^1 \neq \text{Z}^2$  の時

前記一般式〔IV-1〕で表されるヘテロ環 4 級塩化合物 1 モルに対して前記一般式〔V-2〕で表されるジアニル化合物 1 モルを塩基性物質および溶媒の存

在下に反応させ、一般式〔VIII-2〕

【0123】

【化88】

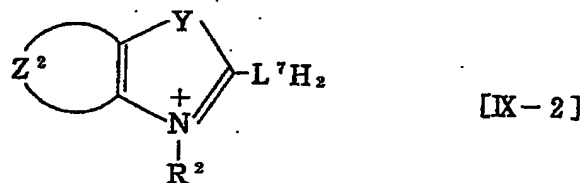


【0124】

(式中、 $L^1$ 、 $L^2$ 、 $L^3$ 、 $L^4$ 、 $L^5$ 、 $L^6$ 、 $R^1$ 、 $Z^1$  および X は前述の通りである) で表される化合物を得、さらに当該一般式〔VIII-2〕で表される化合物 1 モルに対して、一般式〔IX-2〕

【0125】

【化89】

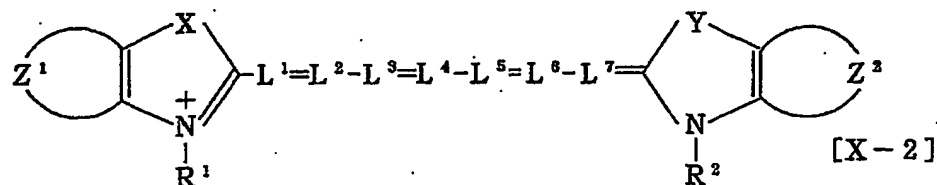


【0126】

(式中、 $L^7$ 、Y、 $Z^2$  および  $R^2$  は前述の通りである) で表されるヘテロ環 4 級塩化合物 1 モルを反応させ、一般式〔X-2〕

【0127】

【化90】





【0128】

(式中、 $L^1$ 、 $L^2$ 、 $L^3$ 、 $L^4$ 、 $L^5$ 、 $L^6$ 、 $L^7$ 、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $Z^1$ 、 $Z^2$ 、 $X$ および $Y$ は前述の通りである)で表される化合物を得、更に当該一般式〔X-2〕で表される化合物1モルと前記一般式〔VII〕で表される化合物の必要モル数を反応させることにより、前記一般式〔X-2〕で表される化合物のナトリウム塩が得られる。

【0129】

(iii)  $r=2$ の場合

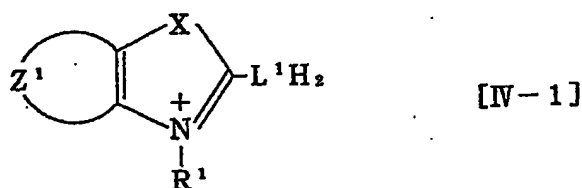
$r=2$ の場合、一般式〔I〕において $L^6$ および $L^7$ が重複するので、ここでは便宜上、重複している $L^6$ および $L^7$ をそれぞれ $L^8$ および $L^9$ とする。

(ア)  $L^1=L^9$ 、 $X=Y$ 、 $R^1=R^2$ 且つ $Z^1=Z^2$ の時

一般式〔IV-1〕

【0130】

【化91】

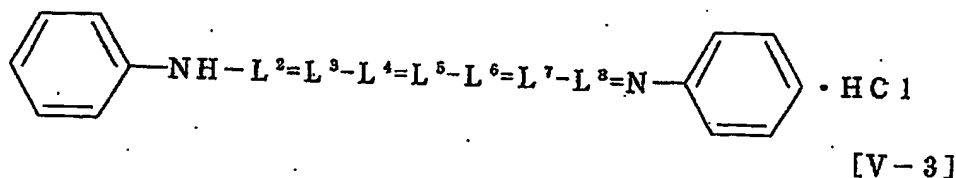


【0131】

(式中、 $L^1$ 、 $X$ 、 $Z^1$ および $R^1$ は前述の通りである)で表されるヘテロ環4級塩化合物2モルに対して、一般式〔V-3〕

【0132】

【化92】

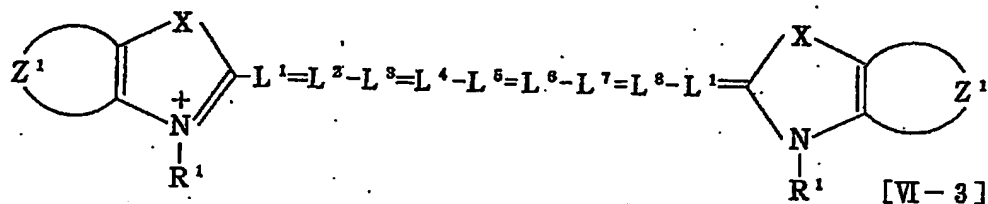


【0133】

(式中、 $L^2$ 、 $L^3$ 、 $L^4$ 、 $L^5$ 、 $L^6$  および  $L^7$  は前述の通りであり、 $L^8$  は置換または無置換のメチン基である) で表されるジアニル化合物 1 モルを、塩基物質および溶媒の存在下に反応させ、一般式 [VI-3]

【0134】

【化93】



【0135】

(式中、 $L^1$ 、 $L^2$ 、 $L^3$ 、 $L^4$ 、 $L^5$ 、 $L^6$ 、 $L^7$ 、 $L^8$ 、 $R^1$ 、 $Z^1$  および  $X$  は前述の通りである) で表される化合物を得、さらに当該一般式 [VI-3]

で表される化合物 1 モルと一般式 [VII]

$T^1 - Na$  [VII] (式中、 $T^1$  は前述の通り)

で表される化合物の必要モル数を反応させることにより、前記一般式 [VI-3] で表される化合物のナトリウム塩が得られる。

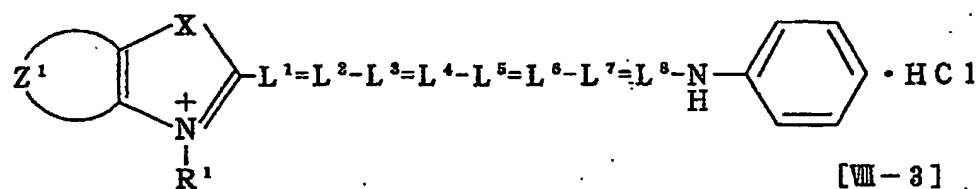
【0136】

(イ)  $L^1 \neq L^9$  または  $X \neq Y$  または  $R^1 \neq R^2$  または  $Z^1 \neq Z^2$  の時

前記一般式 [IV-1] で表されるヘテロ環4級塩化合物 1 モルに対して前記一般式 [V-3] で表されるジアニル化合物 1 モルとを塩基性物質および溶媒の存在下に反応させ、一般式 [VIIII-3]

【0137】

【化94】

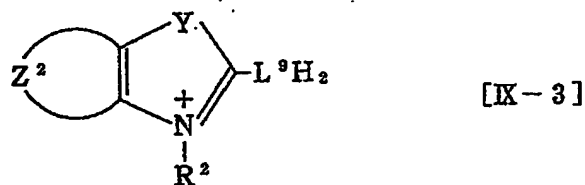


【0138】

(式中、 $L^1$ 、 $L^2$ 、 $L^3$ 、 $L^4$ 、 $L^5$ 、 $L^6$ 、 $L^7$ 、 $L^8$ 、 $R^1$ 、 $Z^1$  および  $X$  は前述の通りである) で表される化合物を得、さらに当該一般式 [VII-3] で表される化合物 1 モルに対して、一般式 [IX-3]

【0139】

【化95】

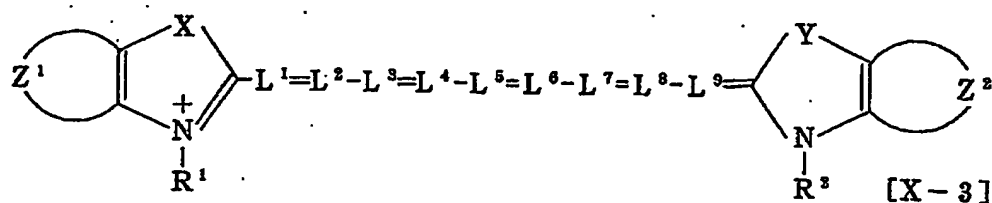


【0140】

(式中、 $Y$ 、 $Z^2$  および  $R^2$  は前述の通りであり、 $L^9$  は置換または無置換のメチン基である) で表されるヘテロ環4級塩化合物 1 モルとを反応させ、一般式 [X-3]

【0141】

【化 96】



【0142】

(式中、 $L^1$ 、 $L^2$ 、 $L^3$ 、 $L^4$ 、 $L^5$ 、 $L^6$ 、 $L^7$ 、 $L^8$ 、 $L^9$ 、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $Z^1$ 、 $Z^2$ 、 $X$ および $Y$ は前述の通りである)で表される化合物を得、更に当該一般式〔X-3〕で表される化合物1モルと前記一般式〔VII〕で表される化合物の必要モル数を反応させることにより、前記一般式〔X-3〕で表される化合物のナトリウム塩が得られる。

【0143】

前記一般式(VII)で表される化合物の必要モル数とは、目的とする一般式〔I〕で表される化合物のナトリウム塩1分子に含まれるナトリウムの当量数以上である。前記 $L^8$ および $L^9$ で表される置換メチン基の置換基としては前記 $L^1 \sim L^7$ で表されるメチン基の置換基と同様の置換基が挙げられる。

【0144】

前記(i)、(ii)および(iii)の合成方法中、前記化合物〔IV-1〕と化合物〔V-1〕との反応、前記化合物〔VIII-1〕と化合物〔XI-1〕との反応、前記化合物〔IV-1〕と化合物〔V-2〕との反応、前記化合物〔VIII-2〕と化合物〔IX-2〕との反応、前記化合物〔IV-1〕と化合物〔V-3〕との反応、および前記化合物〔VIII-3〕と化合物〔IX-3〕との反応において、反応温度は $-20 \sim 80^\circ\text{C}$ 、好ましくは $-10 \sim 40^\circ\text{C}$ であり、無水酢酸等のアシル化剤を存在させることが望ましい。

【0145】

前記 (i)、(ii) および (iii) の合成方法中、前記化合物 [VI-1] と化合物 [VII] との反応、前記化合物 [X-1] と化合物 [VII] との反応、前記化合物 [VI-2] と化合物 [VII] との反応、前記化合物 [X-2] と化合物 [VII] との反応、前記化合物 [VI-3] と化合物 [VII] との反応、および前記化合物 [X-3] と化合物 [VII] との反応において、望ましい反応温度は 0~40℃であり、アルコール、水等の溶媒の存在下で行われることが望ましい。

【0146】

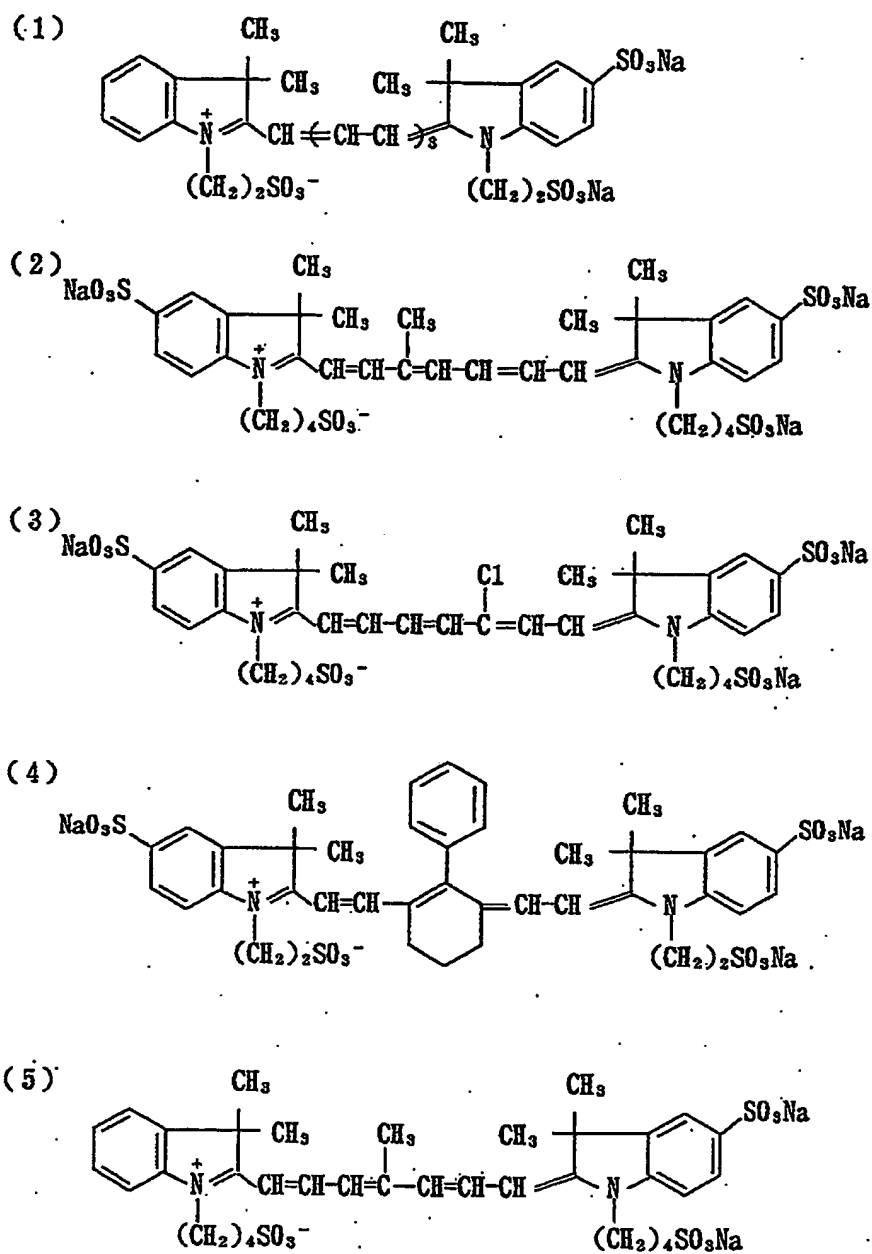
前記 (i)、(ii) および (iii) の合成方法中、使用する塩基物質としては、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ピリジン、ジアザビスクロウンデセン、ナトリウムメトキシド等が挙げられ、溶媒としては、N, N-ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドン、N, N-ジエチルホルムアミド等のアミド系化合物、メタノール等のアルコール類等が挙げられ、有機酸残基としては  $\text{CH}_3\text{COO}$  基等が挙げられる。

前記一般式 [I] で表される化合物の種々の医薬上許容しうる塩の製造に関しては、前記 (i)、(ii) および (iii) の合成方法中、一般式 [VII] で表される化合物の代わりに、例えば一般式 [VII] で表される化合物のナトリウム原子をアンモニウム基またはカリウム原子に代えた化合物を用いることにより、一般式 [I] で表される化合物のアンモニウム塩またはカリウム塩が製造でき、又、更に必要に応じて、該アンモニウム塩またはカリウム塩をイオン交換樹脂を用いて、他の陽イオン塩に変換することにより、一般式 [I] で表される化合物の該他の陽イオン塩を製造することができる。

本発明において用いられる前記一般式 [I] で表される化合物（一般式 [II] で表される化合物を含む）の具体例を以下に示すが、本発明はこれらに限定されるものではない。

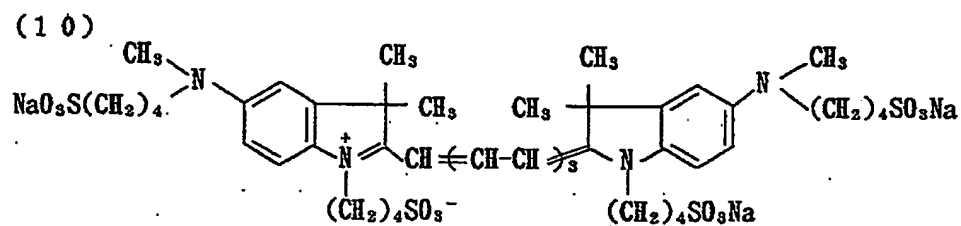
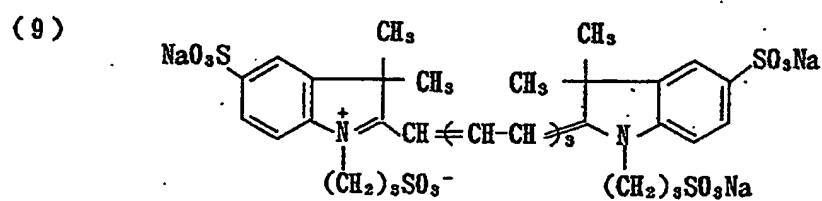
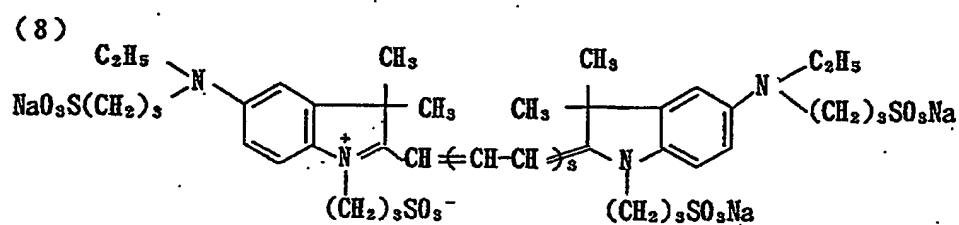
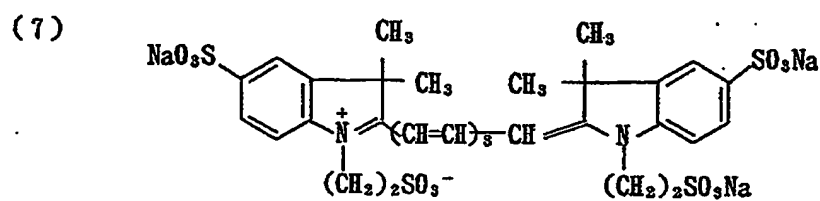
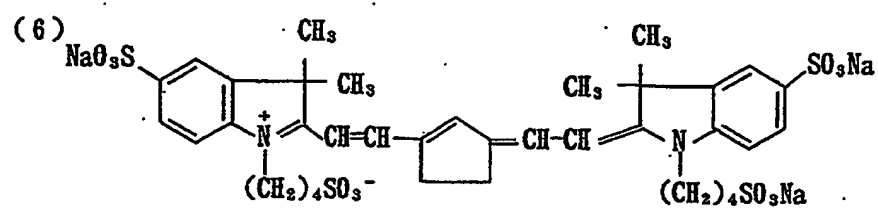
【0147】

【化 9 7】



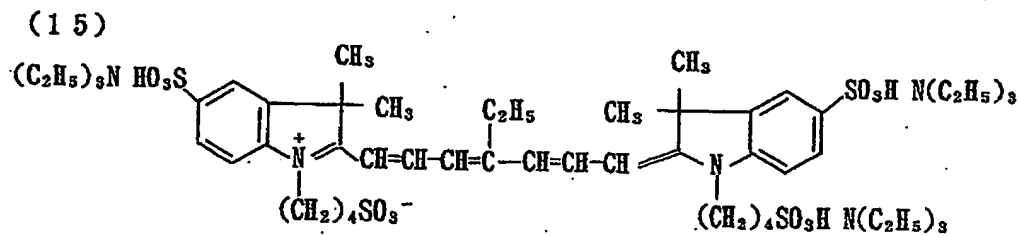
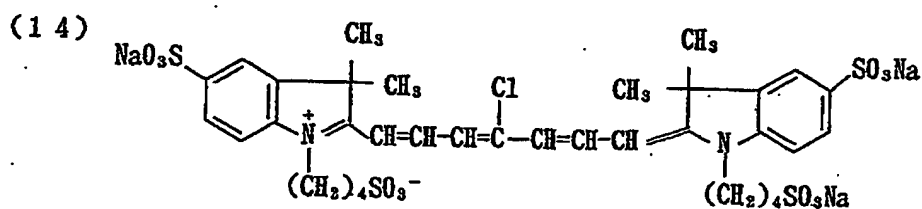
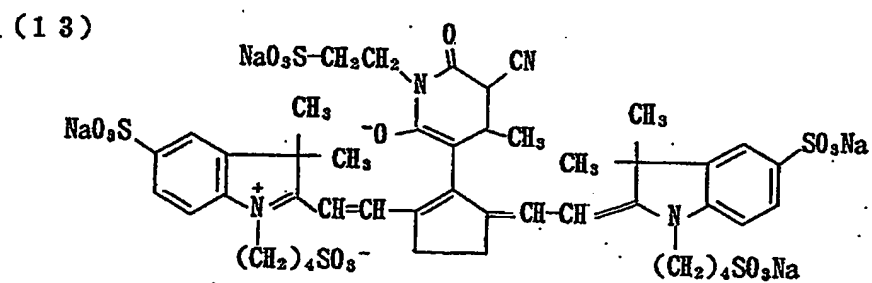
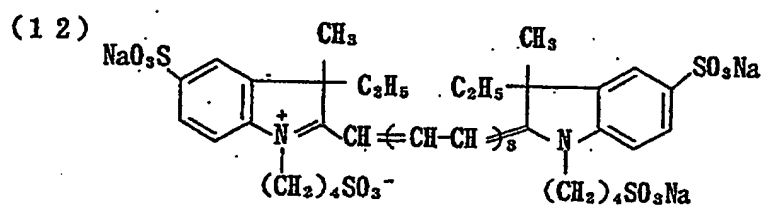
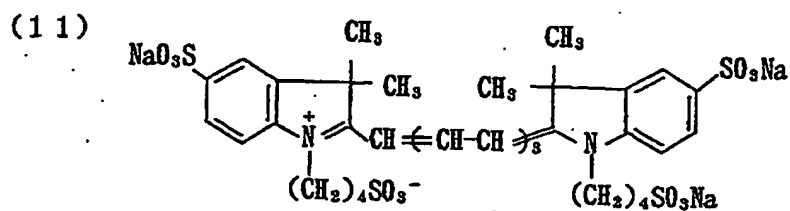
【0 1 4 8】

【化 9 8】



【0 1 4 9】

【化 9 9】

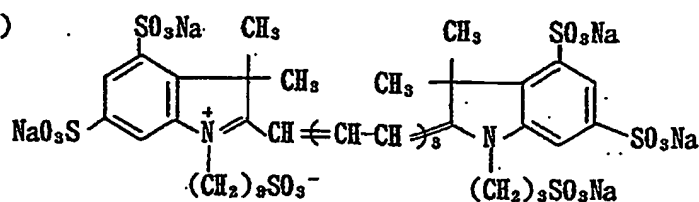


【0150】

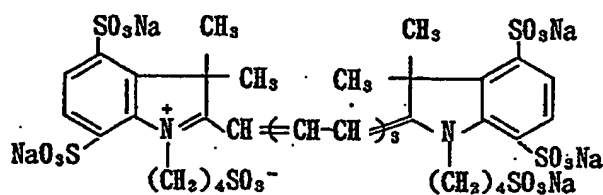


【化 100】

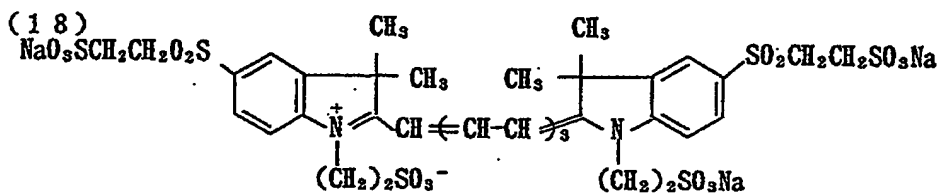
(16)



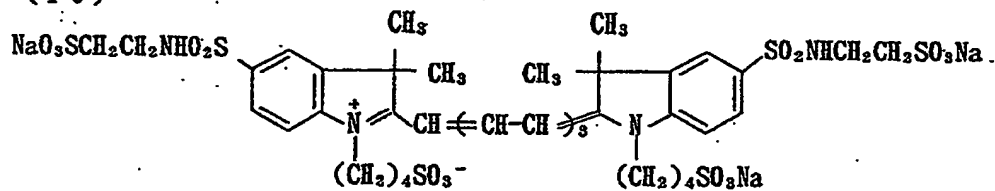
(17)



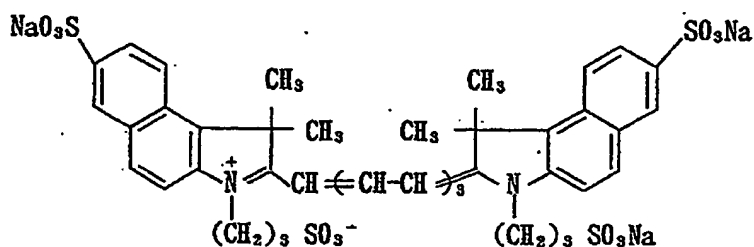
(18)



(19)

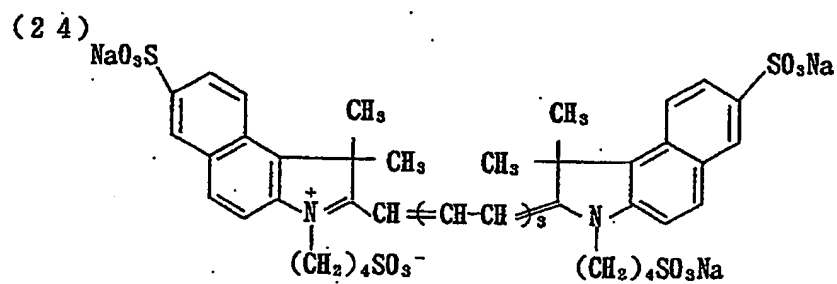
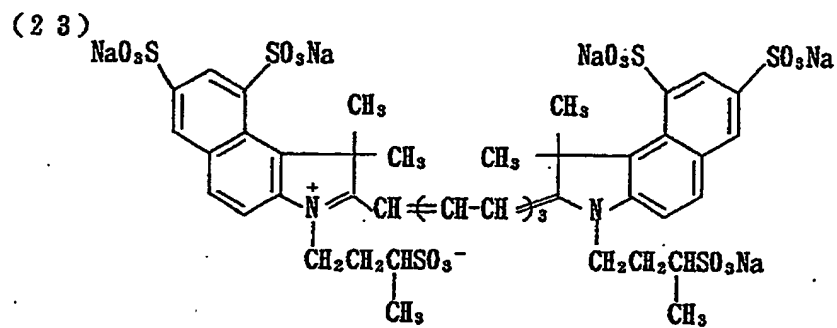
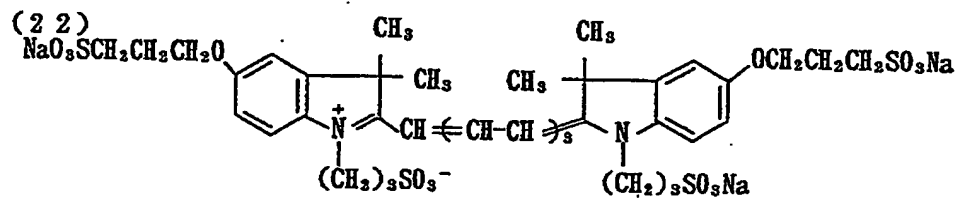
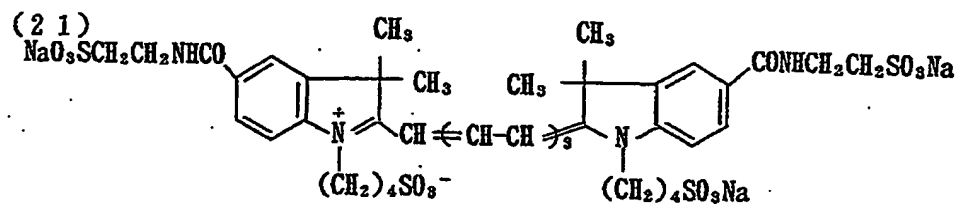


(20)



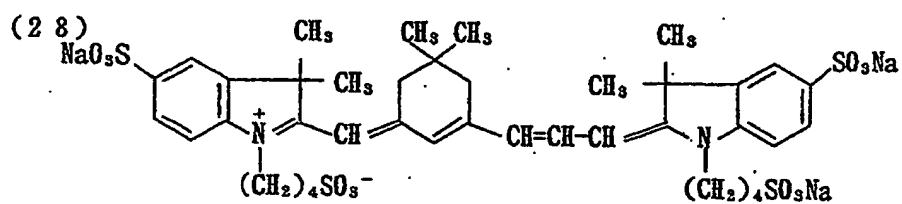
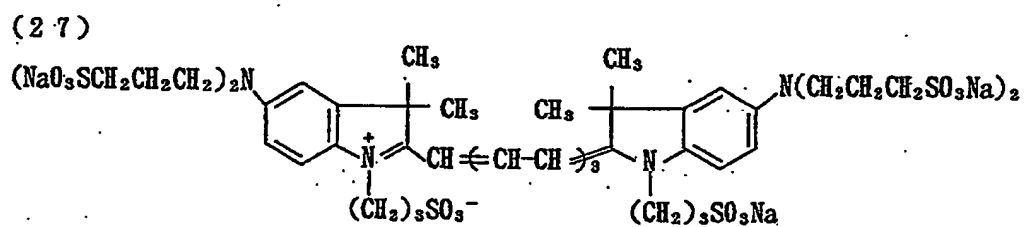
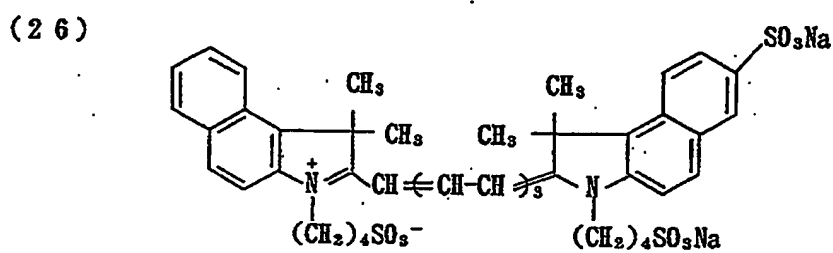
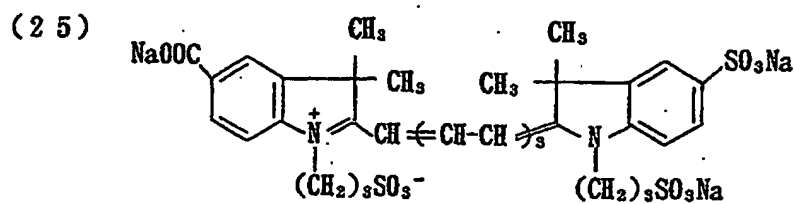
【0151】

【化 101】



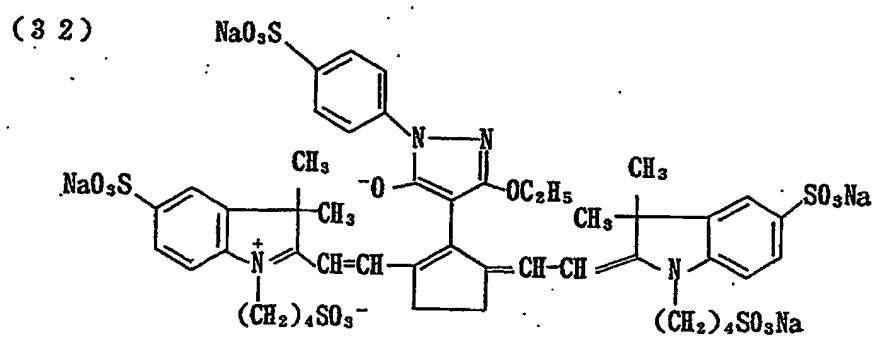
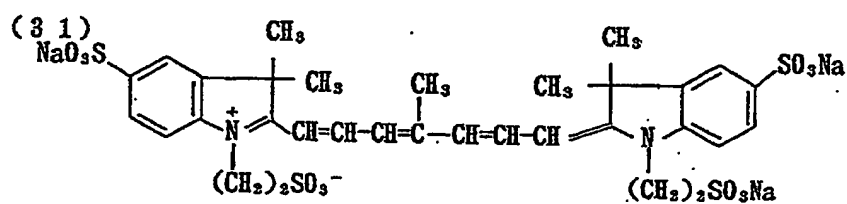
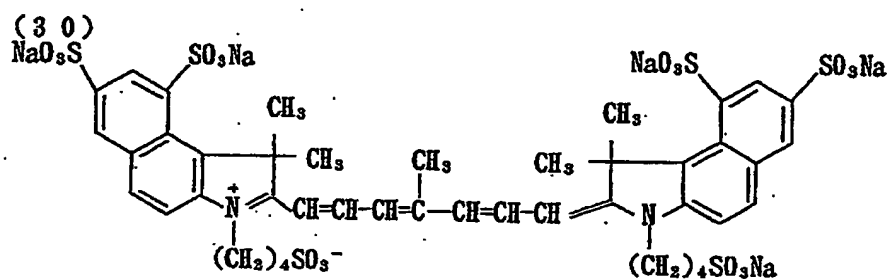
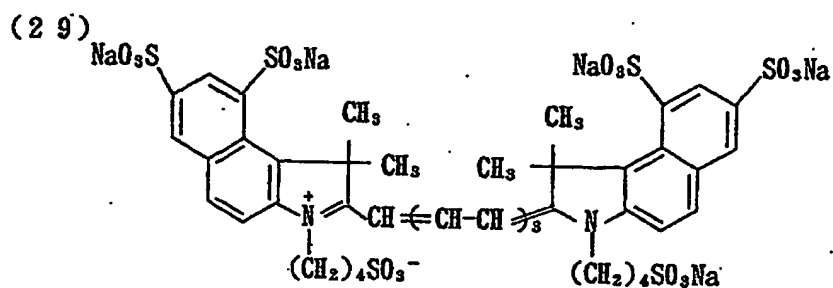
【0152】

【化 102】



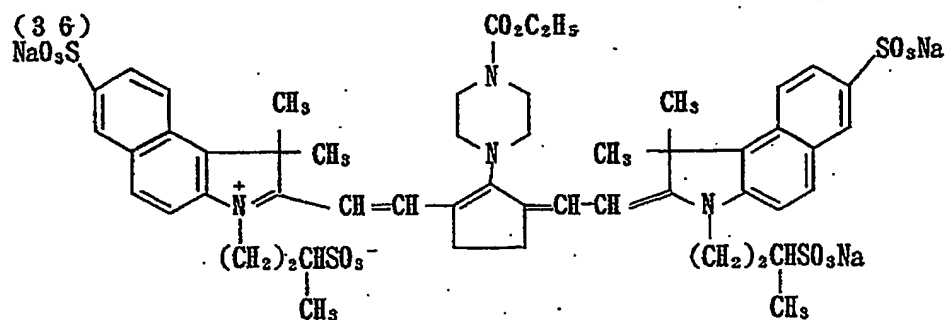
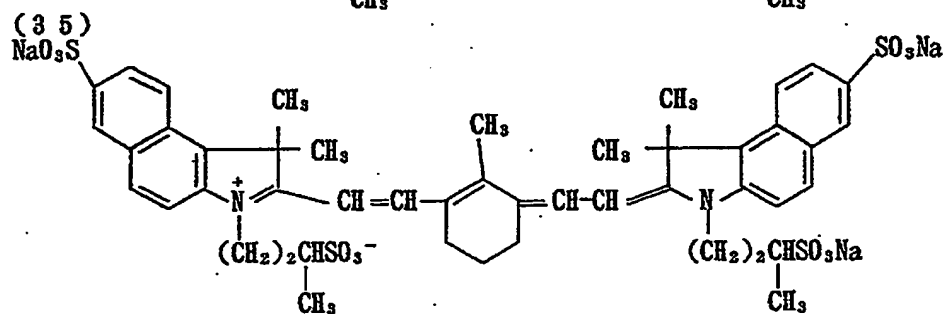
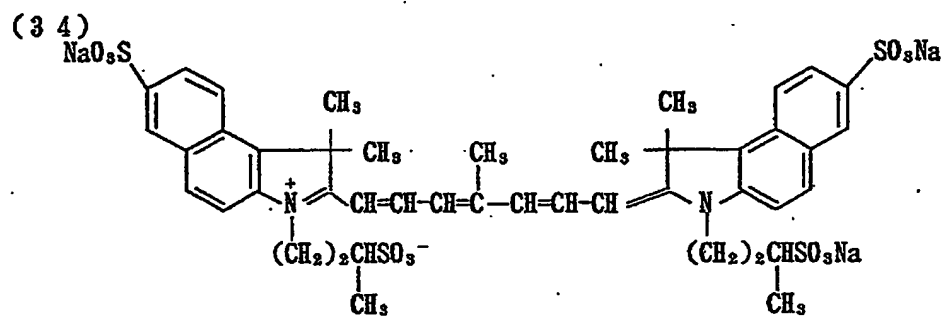
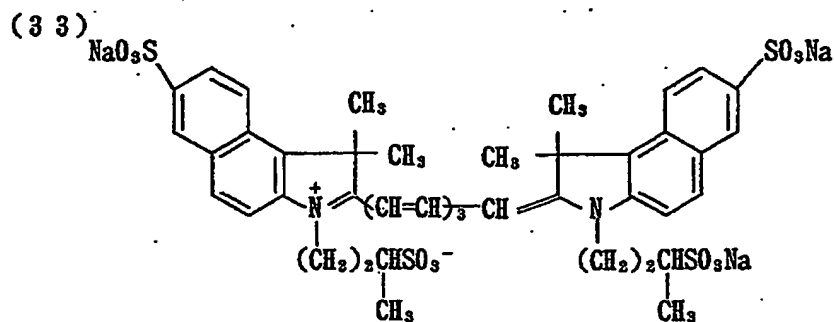
【0153】

【化 103】



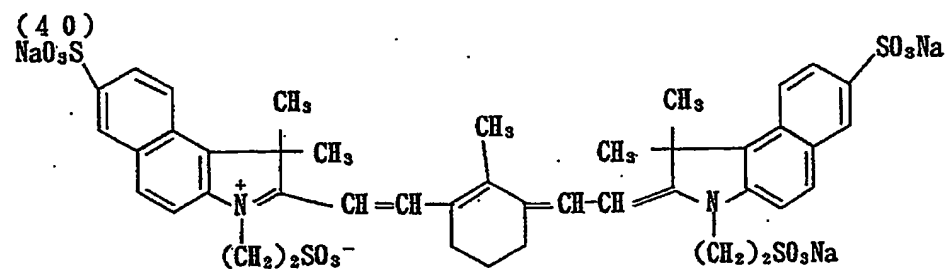
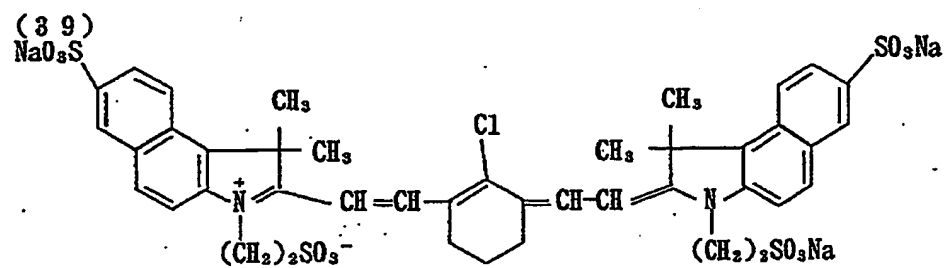
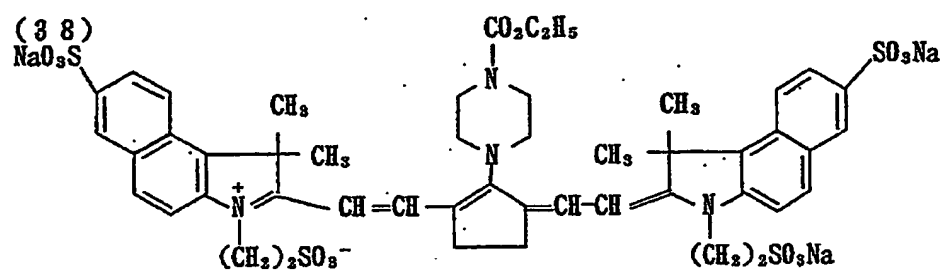
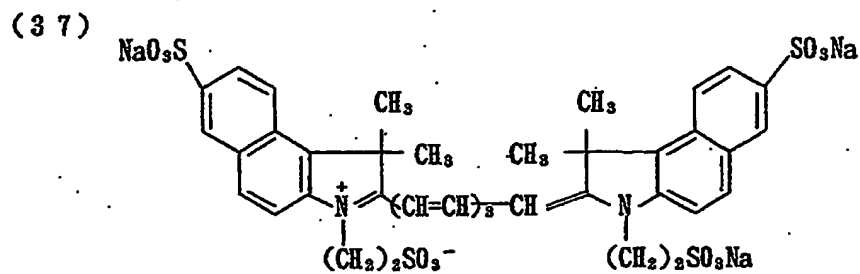
【0154】

【化 104】



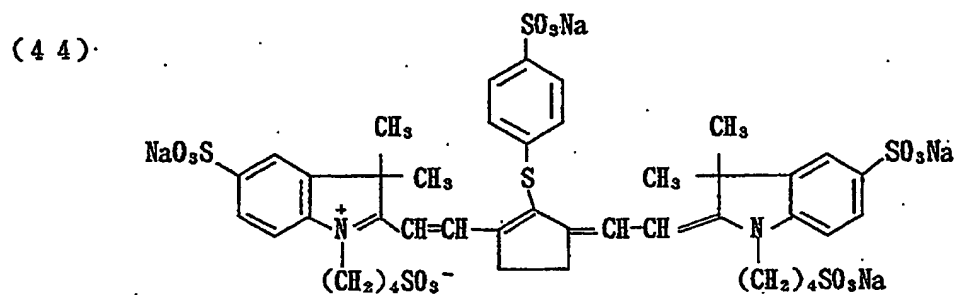
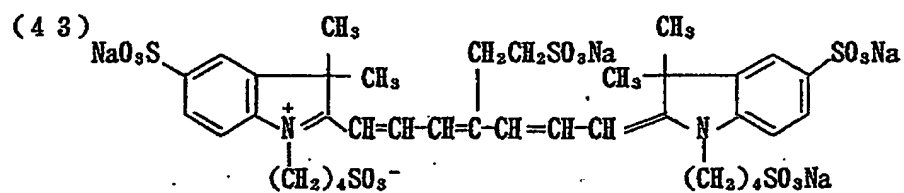
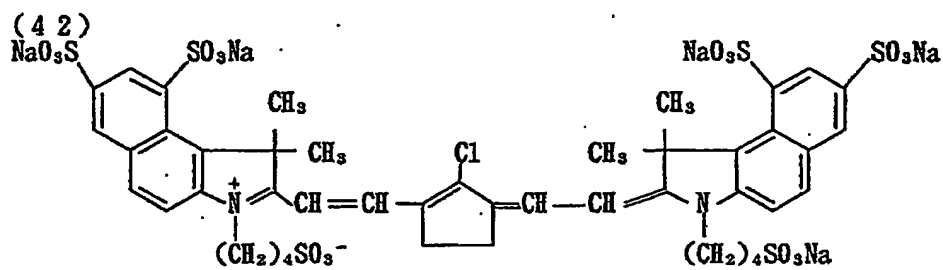
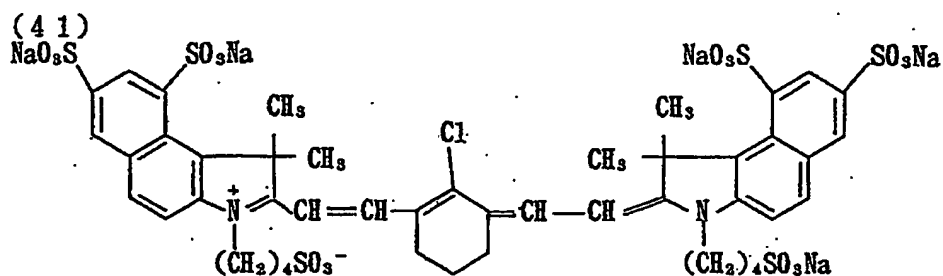
【0155】

【化 105】



【0156】

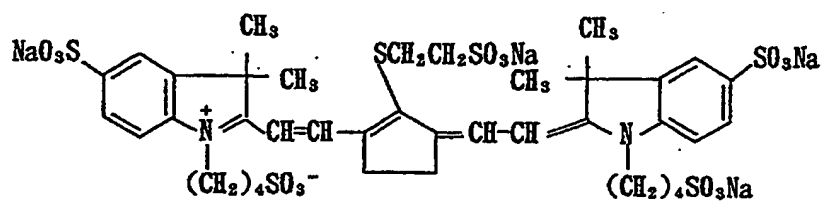
【化 106】



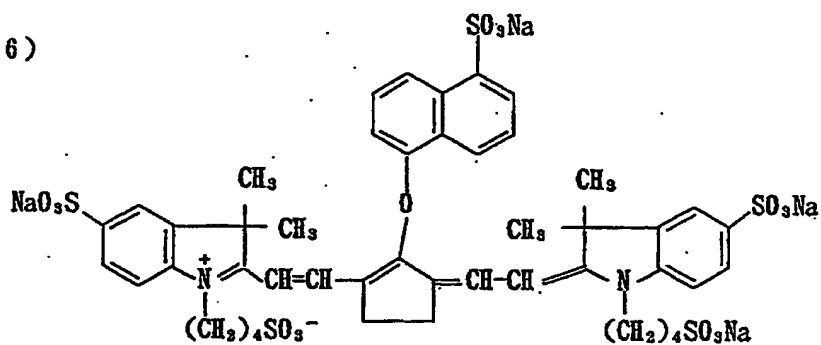
【0157】

【化 107】

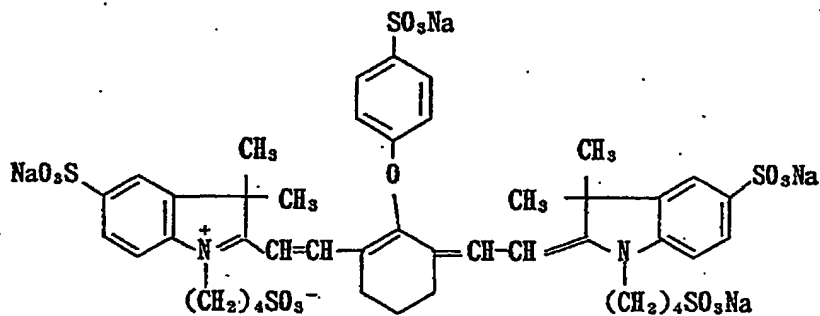
(45)



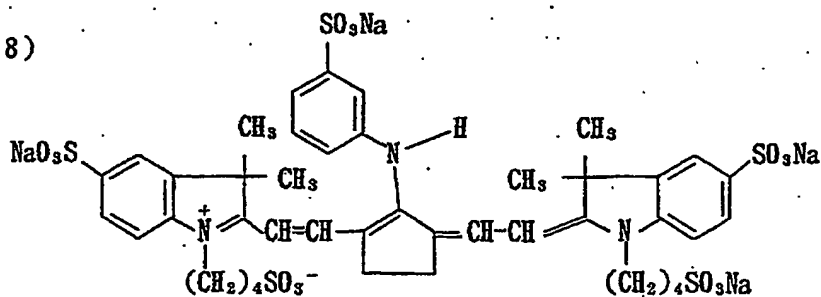
(46)



(47)



(48)

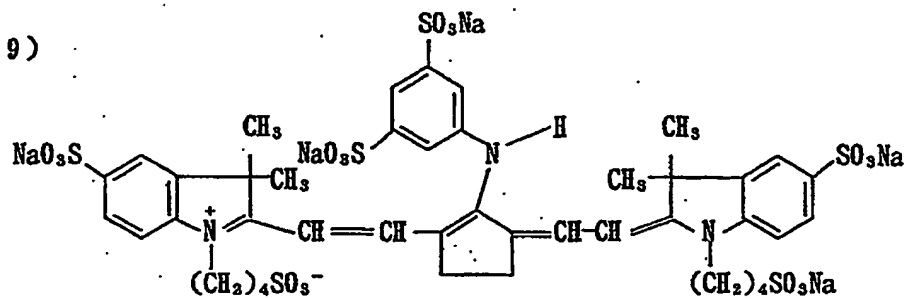


【0158】

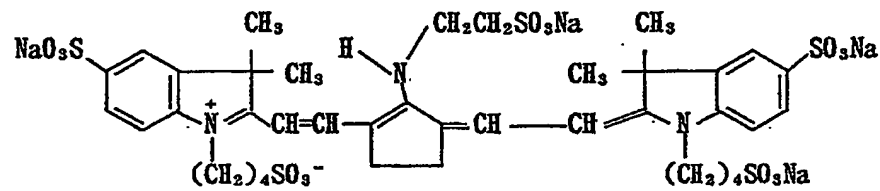


【化 108】

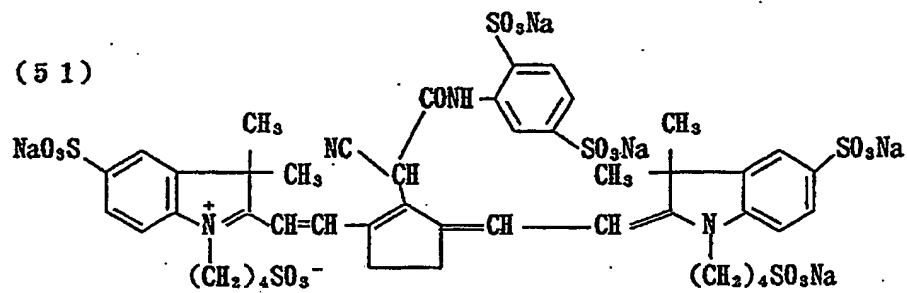
(49)



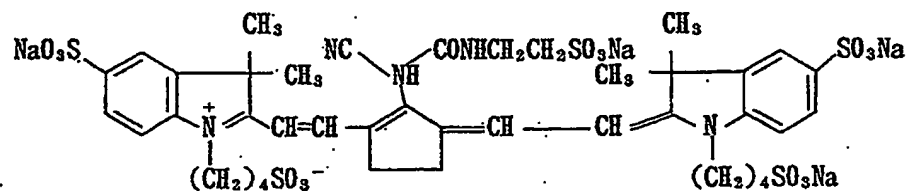
(50)



(51)

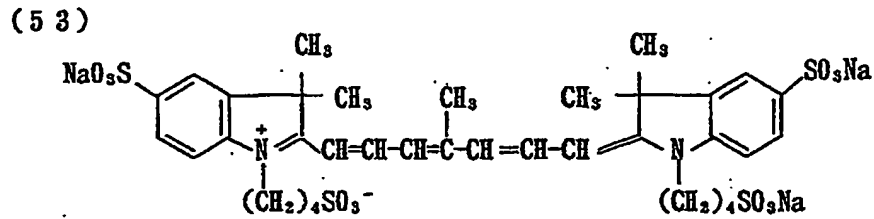


(52)



【0159】

【化109】



【0160】

上述の、本発明の近赤外蛍光造影剤に含められる化合物は近赤外光領域（700～1300nm）、特に700～900nm付近に吸収および蛍光を示し、そのモル吸光係数は100,000以上である。

【0161】

本発明の近赤外蛍光造影剤としては、一般式〔I〕または一般式〔II〕で表され、且つその分子中にスルホン酸基を3個以上、好ましくは4個以上有する化合物および／またはそれらの医薬上許容される塩を含んでいれば特に限定されず、当該化合物またはそれらの塩が単独で、または2種以上が組み合わせられて当該造影剤に含められる。

具体的には当該化合物、当該化合物を注射用蒸留水、生理食塩水やリンゲル液等の溶媒に懸濁、または溶解したもの等が挙げられ、さらに必要に応じて、薬理学的に許容されうる担体、賦形剤等の添加剤を含めることができる。これらの添加剤には薬理学的に許容できる電解液、緩衝液、界面活性剤および浸透圧を調節するための物質、例えばシクロデキストリン、リボソーム等の安定性や溶解性を改善する物質等が含められる。各種添加剤は通常当分野で用いられるものが使用される。本発明の近赤外蛍光造影剤は、特に医薬上の使用に際する場合には、無菌工程を経て製造されることが好ましい。

【0162】

当該造影剤は、血管（静脈、動脈）内、経口内、腹腔内、皮下、皮内、膀胱内

、気管（支）内等へ注入、噴霧もしくは塗布等の手段により生体内に投与することができ、好ましくは、水剤、乳剤または懸濁液等の形態で血管内投与する。

【0163】

本発明の近赤外蛍光造影剤の投与量は、最終的に診断する部位を検出できる量であれば特に限定されず、使用する近赤外蛍光を発する化合物の種類、投与される対象の年齢や身体のおよび標的とする臓器等によって適宜増減できるが、通常、当該化合物の量で  $0.1 \sim 100 \text{ mg/kg} \cdot \text{体重}$ 、好ましくは  $0.5 \sim 20 \text{ mg/kg} \cdot \text{体重}$  の範囲で投与すれば十分である。

【0164】

また、本発明の造影剤はヒト以外にも各種動物用の造影剤としても好適に用いることができ、その投与形態、投与経路、投与量等は対象となる動物の体重や状態によって適宜選択する。

【0165】

さらに、本発明においては、上記一般式〔I〕、就中、一般式〔II〕で表され、且つその分子内に3個以上、好ましくは4個以上のスルホン酸基を有する一連の化合物は、腫瘍組織に顕著に集積する傾向を有し、その特性を利用して腫瘍組織を特異的に造影することが可能な蛍光造影剤を得ることができる。また、当該一連の化合物は、血管内での貯留性が高く、従って血管造影剤としての有用性が期待できる。

【0166】

本発明の蛍光造影方法は、本発明の近赤外蛍光造影剤を用いることを特徴とする。当該測定方法は当業者には公知の方法を用いて行われ、励起波長、検出すべき蛍光波長等の各パラメーターは、最適の記録ならびに評価を得るための状態を得るべく、投与する近赤外蛍光造影剤の種類、投与する対象等に応じて適宜決定される。本発明の近赤外蛍光造影剤を測定対象物に投与してから、本発明の蛍光造影方法を用いて測定を開始するのに要する時間も、投与する近赤外蛍光造影剤の種類、投与する対象等によって異なるが、例えば腫瘍造影を目的として、一般式〔I〕で表される化合物を含むものを投与する場合には投与後4～120時間程度の経過時間、特に〔II〕で表される化合物であれば投与後24～120時

間程度の経過時間が例示される。経過時間が短すぎると全体に蛍光が強すぎて目的とする部位とそれ以外の部位との識別が困難であり、長すぎると当該造影剤が体外に排泄されてしまう。血管造影を目的とする場合には一般式〔I〕で表される化合物（一般式〔II〕で表される化合物も含む）を含むものを投与する場合には投与直後～30分間程度の経過時間で測定することができる。

具体的には以下の方法にて測定し得る。

#### 【0167】

本発明の近赤外蛍光造影剤を測定対象物に投与した後、励起光源により励起光を測定対象物の外部へ照射し、該励起光により生じる当該近赤外蛍光造影剤からの蛍光を蛍光検出器で検出する。

励起するための波長は、使用する近赤外蛍光造影剤によって異なり、当該化合物が効率よく近赤外蛍光を発すればとくに限定されないが、好ましくはより生体透過性に優れた近赤外光が用いられる。

また、当該化合物から発せられる検出すべき近赤外蛍光の波長も使用する造影剤によって異なる。通常600～1000nm、好ましくは700～850nmの波長の励起光で励起し、通常700～1000nm、好ましくは750～900nmの近赤外蛍光を検出する。この場合、蛍光励起光源としては、各種レーザー光源（イオンレーザー、色素レーザー、半導体レーザー等）、ハロゲン光源、キセノン光源等の通常の励起光源が用いられ、必要であれば最適な励起波長を得るために各種光学フィルターを使用することができる。同様に、蛍光の検出に際しても、当該近赤外蛍光造影剤からの蛍光のみを選択すべく各種光学フィルターを使用することが可能である。

#### 【0168】

検出された蛍光は蛍光情報としてデータ処理することにより蛍光画像へと構築され、記録することができる。蛍光画像を構築する方法としては、組織を広範囲に照射し、CCDカメラによって蛍光を検出し、得られた蛍光情報を画像処理する方法、光CT装置を利用する方法、内視鏡を利用する方法、眼底カメラを用いる方法等が挙げられる。

#### 【0169】

本発明の蛍光造影法は、生体に害を及ぼすことなく、全身疾患、腫瘍、血管等を可視化することが可能である。

【書類名】 明細書

【0170】

【実施例】

以下に本発明をより詳細に説明するために実施例および実験例を挙げるが、本発明はこれらによって何ら限定されるものではない。尚、以下の実施例ならびに実験例における化合物の番号は上に構造を列挙した化合物の番号に対応する。

【0171】

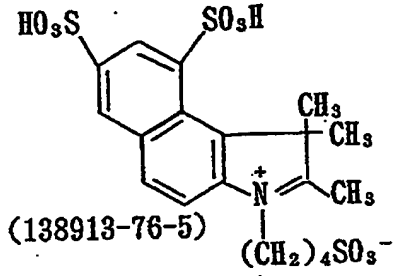
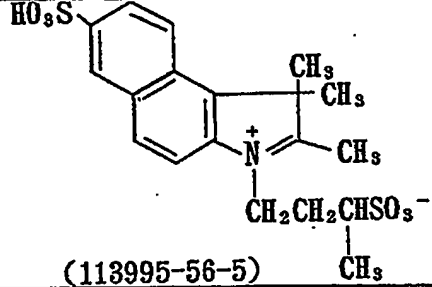
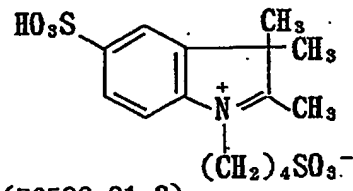
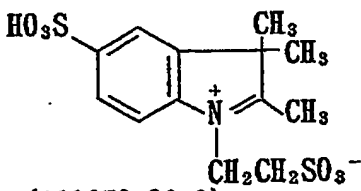
本発明の近赤外蛍光造影剤に有効成分として含められる化合物の合成方法を実施例によって説明する。

以下に示す合成方法は、多くの場合、表1に示すヘテロ環4級塩化合物と表2および表3に示すジアニル化合物との反応からなる。

【0172】

【表 1】

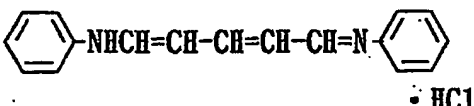
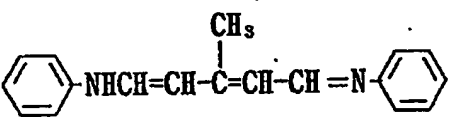
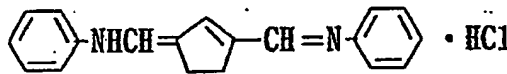
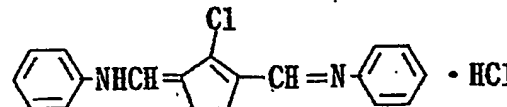
ヘテロ環 4 級塩化合物

記号	構造式 [Chemical Abstract(CA)登録番号]	供給元／合成法の記載
Q 1	 <p>(138913-76-5)</p>	Q 2 の合成と同様にして 対応するインドレニン誘 導体をブタンサルトンと 反応させて合成する
Q 2	 <p>(113995-56-5)</p>	特開昭 63-55544 EP 251282
Q 3	 <p>(76588-81-3)</p>	特開平 2-233658 CA 114: 122053
Q 4	 <p>(183272-36-8)</p>	Q 3 の合成と同様にして 対応するインドレニン誘 導体を 2-ブプロモエタン スルホン酸と反応させる

【0173】

【表 2】

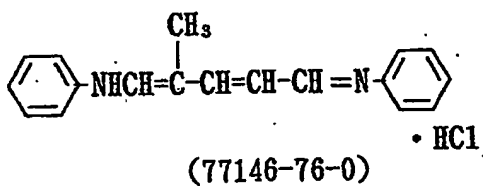
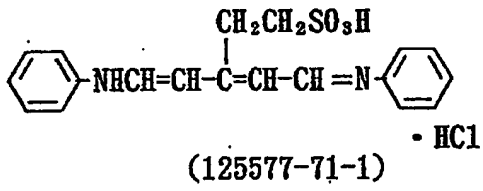
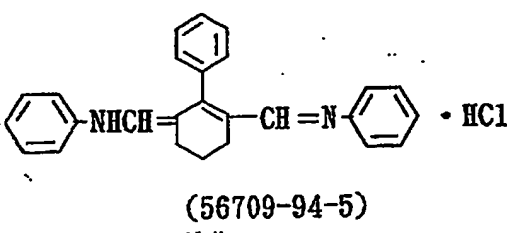
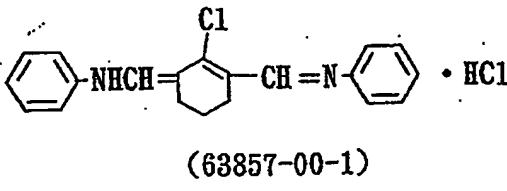
ジアニル化合物-1

記号	構造式 [Chemical Abstract(CA)登録番号]	供給元/合成法の記載
A 1	 (1497-49-0)	市販試薬としてAldrich 等より入手可能
A 2	 (1979-58-4)	特開平 8-295658 CA 126: 90721
A 3	 (53019-66-2)	Zh. Org. Khim., 13(6) 1189-92 (1977) CA 87: 102034
A 4	 (63856-99-5)	Zh. Org. Khim., 13(6) 1189-92 (1977) CA 87: 102034

【0174】

【表 3】

## ジアニル化合物-2

記号	構造式 [Chemical Abstract(CA)登録番号]	供給元/合成法の記載
A 5	 (77146-76-0)	Nukleofil' nye Reacts. Karbonil' nykn Soedin (1982), 52-53  CA 101 : 130179
A 6	 (125577-71-1)	Ger Offem, DE 2928184  CA 94 : 176696
A 7	 (56709-94-5)	Zh. Org. Khim., 18(10) 2176-9 (1982)  CA 98 : 73808
A 8	 (63857-00-1)	Zh. Org. Khim., 13(6) 1189-92 (1977)  CA 87 : 102034

【0175】

以下の実施例では便宜上これらの化合物を表1～3に示した記号(A1、Q1等)を用いて引用する。



【0176】

実施例 1 化合物 (29) の合成

5 g のヘテロ環 4 級塩化合物 Q1 にメタノール 100 ml、N, N-ジメチルホルムアミド 25 ml、トリエチルアミン 5.6 ml、ジアニル化合物 A1 を 1.83 g、および無水酢酸 3 ml を加えて室温で 4 時間攪拌した。トリエチルアミン 2.2 ml と無水酢酸 2 ml を追加し、更に 3 時間室温で攪拌した。不溶物を濾過して除き、濾液に酢酸ナトリウム 2 g を 15 ml のメタノールに溶かしたものを加え、室温で 1 時間攪拌した後、生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄した。得られた粗結晶 3.5 g に 20 ml の水を加えて溶かし、酢酸ナトリウム 1 g を加えた後、メタノール 30 ml を加え、1 時間攪拌した。生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄し、乾燥して 3 g の化合物 (29) を得た。得られた化合物 (29) の炎色反応を行ったところ黄色であった。

吸収極大波長 ( $H_2O$ ) : 780 nm

モル吸光係数 ( $H_2O$ ) : 243,000

発光極大波長 ( $H_2O$ ) : 802 nm

又、更に得られた化合物 (29) についてフーリエ変換赤外分光光度計 (VALOR-III/日本分光 (株) 製) を用いて、赤外線吸収スペクトルの測定 (臭化カリウム錠剤法) を行ったところ、下記のピークが得られた。又、そのスペクトルを図 4 に示す。

IR ( $\nu_{max}$  (KBr)) : 1414、1086、1037、995、889  $cm^{-1}$

【0177】

実施例 2 化合物 (34) の合成

2.13 g のヘテロ環 4 級塩化合物 Q2 にメタノール 20 ml を加え 10℃ に冷却した。0.75 g のジアニル化合物 A2、トリエチルアミン 4 ml、および無水酢酸 2 ml を加えて 20 分間攪拌し、さらに 2 ml の無水酢酸を加え、10℃ で 4 時間攪拌した。不溶物を濾過して除き、濾液に酢酸ナトリウム 2 g を少量のメタノールに溶かしたものを加え、生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄した。得られた粗結晶に 7 ml の水を加えて溶かし、メタノール 7 ml を加えて結晶を析出させ、濾取し、少量のメタノールで洗浄し、乾燥して 1.2 g の

化合物(34)を得た。得られた化合物(34)の炎色反応を行ったところ黄色であった。

吸収極大波長( $H_2O$ ) : 794 nm

モル吸光係数( $H_2O$ ) : 176,000

発光極大波長( $H_2O$ ) : 812 nm

【0178】

#### 実施例3 化合物(6)の合成

9.5 gのヘテロ環4級塩化合物Q3に、メタノール50 ml、トリエチルアミン7 ml、3.1 gのジアニル化合物A3、および無水酢酸3.9 mlを加えて7時間室温で攪拌する。不溶物を濾過して除き、濾液に酢酸ナトリウム5 gを少量のメタノールに溶かしたものを加え、一晩放置する。生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄後、30 mlの水に溶解し、酢酸ナトリウム2 gを加え、メタノール30 mlを加える。生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄し、乾燥して化合物(6)を得る。

【0179】

#### 実施例4 化合物(45)の合成

4.8 gのヘテロ環4級塩化合物Q3に、メタノール50 ml、トリエチルアミン4 ml、1.7 gのジアニル化合物A4、および無水酢酸2 mlを加えて3時間室温で攪拌した。不溶物を濾過して除き、濾液に酢酸ナトリウム4 gを少量のメタノールに溶かしたものを加えた。生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄した後、10 mlの水に溶解し、メタノール10 mlを加えた。生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄し、風乾して化合物(45)のメチン鎖上の置換基が $-SCH_2CH_2SO_3Na$ ではなく $-Cl$ である化合物を1.6 g得た。

上記操作を繰り返して得られた当該化合物4.2 gに水30 ml、トリエチルアミン1.2 ml、および2-メルカプトエタンスルホン酸ナトリウム0.8 gを加え、室温で4時間攪拌した後、不溶物を濾過して除き、濾液に酢酸ナトリウム2 gを少量の水に溶かしたものを加えた。生じた結晶を濾取し、メタノール20 mlで洗浄し、風乾して2.3 gの化合物(45)を得た。得られた化合物(

45) の炎色反応を行ったところ黄色であった。

吸収極大波長 ( $H_2O$ ) : 815 nm

モル吸光係数 ( $H_2O$ ) : 196,000

発光極大波長 ( $H_2O$ ) : 827 nm

【0180】

#### 実施例5 化合物(2)の合成

4. 7 g のヘテロ環4級塩化合物Q3に、メタノール25 ml、トリエチルアミン2.8 ml、1.5 g のジアニル化合物A5、および無水酢酸2.4 mlを加えて1時間室温で攪拌する。さらにトリエチルアミン3.5 ml、無水酢酸1.5 mlを加えて3.5時間攪拌する。不溶物を濾過して除き、濾液に酢酸ナトリウム3 gを少量のメタノールに溶かしたものを加え、室温で1時間攪拌する。生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄後、15 mlの水に溶解し、メタノール15 mlを加える。生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄し、乾燥して化合物(2)を得る。

【0181】

#### 実施例6 化合物(43)の合成

3. 75 g のヘテロ環4級塩化合物Q3に、メタノール25 ml、トリエチルアミン3.5 ml、1.95 g のジアニル化合物A6、および無水酢酸2.4 mlを加えて1時間室温で攪拌した。不溶物を濾過して除き、濾液に酢酸ナトリウム3.9 gを少量のメタノールに溶かしたものを加え、室温で1時間攪拌した。生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄した後、10 mlの水に溶解し、酢酸ナトリウム2 gを加え、メタノール10 mlを加えた。生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄し、乾燥して1.8 gの化合物(43)を得た。得られた化合物(43)の炎色反応を行ったところ黄色であった。

吸収極大波長 ( $H_2O$ ) : 773 nm

モル吸光係数 ( $H_2O$ ) : 204,000

発光極大波長 ( $H_2O$ ) : 789 nm

【0182】

#### 実施例7 化合物(4)の合成

3. 5 g のヘテロ環4級塩化合物Q3に、メタノール20 ml、トリエチルアミン3.5 ml、1.2 g のジアニル化合物A7、および無水酢酸1.9 mlを加えて10時間室温で攪拌後、一晩放置する。50℃で5時間加熱攪拌後、2 mlの水を加え、不溶物を濾過して除き、濾液に酢酸ナトリウム5 gを少量の水に溶かしたものを加え、室温で30分間攪拌する。生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄後、乾燥して化合物(4)を得る。

【0183】

### 実施例 8 化合物 (31) の合成

3. 5 g のヘテロ環 4 級塩化合物 Q 4 に、メタノール 35 ml、トリエチルアミン 3.5 ml、および無水酢酸 2 ml を加えた。これを攪拌しつつ 1.8 g のジアニル化合物 A 2 を少量ずつ加えた。更に 1 時間攪拌し、無水酢酸 2 ml を加えた後、室温で 5 時間攪拌した。不溶物を濾過して除き、濾液に酢酸ナトリウム 4 g を少量のメタノールに溶かしたものを加えた。生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄した後、10 ml の水に溶解し、メタノール 10 ml を加えて室温で 2 時間攪拌した。生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄した後、乾燥して 1.3 g の化合物 (31) を得た。得られた化合物 (31) の炎色反応を行ったところ黄色であった。

吸收極大波長 (H<sub>2</sub>O) : 755 nm

モル吸光係数 (H<sub>2</sub>O) : 228,000

発光極大波長 (H<sub>2</sub>O) : 774 nm

又、更に得られた化合物(31)についてフーリエ変換赤外分光光度計(VALOR-III/日本分光(株)製)を用いて、赤外線吸収スペクトルの測定(臭化カリウム錠剤法)を行ったところ、下記のピークが得られた。又、そのスペクトルを図5に示す。

I R (  $\nu_{\max}$  (KBr) ) : 1518, 1183, 1149, 1111, 995 cm<sup>-1</sup>

【0184】

### 実施例 9 化合物 (41) の合成

12 g のヘテロ環4級塩化合物Q 1に、メタノール120 ml、トリエチルア

ミン 13.6 ml、4.4 g のジアニル化合物 A8、および無水酢酸 2.4 ml を加えて 30 分間攪拌した。無水酢酸 2.4 ml を加えて 1.5 時間、さらに無水酢酸 2.4 ml を加えて 6 時間室温で攪拌した。ヘテロ環 4 級塩化合物 Q1 を 1 g、トリエチルアミンを 3 ml、無水酢酸を 3 ml それぞれ追加して 2 時間室温で攪拌した後、一晚放置した。酢酸ナトリウム 5 g を加え、生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄した。得られた粗結晶に 200 ml の水を加え、不溶物を濾過して除き、濾液に酢酸ナトリウム 10 g を加え、生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄した。この結晶に水 200 ml、トリエチルアミン 10 ml を加えた後、酢酸ナトリウム 10 g を 100 ml のメタノールに溶かしたものを加え、結晶を得るという操作を 2 回繰り返した。生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄した後、乾燥して 9.7 g の化合物 (41) を得た。得られた化合物 (41) の炎色反応を行ったところ黄色であった。

吸収極大波長 ( $H_2O$ ) : 811 nm

モル吸光係数 ( $H_2O$ ) : 230,000

発光極大波長 ( $H_2O$ ) : 822 nm

【0185】

#### 実施例 10 化合物 (3) の合成

実施例 5 に準じてヘテロ環 4 級塩化合物 Q3 と対応するジアニル化合物を用いて化合物 (3) を得る。

【0186】

#### 実施例 11

実施例 1 の化合物 (29) の合成において、酢酸ナトリウム 2 g の代わりに酢酸カリウム 2 g を用いる他は実施例 1 と同様にして化合物 (29) の対イオンのナトリウムがカリウムに変わった化合物 (以下、当該化合物を化合物 (29) K 塩という) を得た。得られた化合物 (29) K 塩の炎色反応を行ったところ紫色であった。

吸収極大波長 ( $H_2O$ ) : 780 nm

モル吸光係数 ( $H_2O$ ) : 254,000

発光極大波長 ( $H_2O$ ) : 800 nm

【0187】

その他の前述の化合物についても、本実施例と同様にして対イオンのナトリウムがカリウムに変わった化合物をそれぞれ得ることができる。

これら対イオンがカリウムの化合物については、対応する化合物番号の後にK塩と付して区別する。

【0188】

実施例 12

実施例 11 と同様にして、化合物 (6) K 塩を得た。得られた化合物 (6) K 塩の炎色反応を行ったところ紫色であった。

吸収極大波長 ( $H_2O$ ) : 788 nm

モル吸光係数 ( $H_2O$ ) : 226,000

発光極大波長 ( $H_2O$ ) : 806 nm

【0189】

実施例 13

実施例 11 と同様にして、化合物 (2) K 塩を得た。得られた化合物 (2) K 塩の炎色反応を行ったところ紫色であった。

吸収極大波長 ( $H_2O$ ) : 743 nm

モル吸光係数 ( $H_2O$ ) : 266,000

発光極大波長 ( $H_2O$ ) : 762 nm

【0190】

実施例 14

実施例 11 と同様にして、化合物 (4) K 塩を得た。得られた化合物 (4) K 塩の炎色反応を行ったところ紫色であった。

吸収極大波長 ( $H_2O$ ) : 753 nm

モル吸光係数 ( $H_2O$ ) : 212,000

発光極大波長 ( $H_2O$ ) : 767 nm

【0191】

実施例 15

実施例 11 と同様にして、化合物 (3) K 塩を得た。得られた化合物 (3) K

塩の炎色反応を行ったところ紫色であった。

吸収極大波長 ( $H_2O$ ) : 751 nm

モル吸光係数 ( $H_2O$ ) : 241,000

発光極大波長 ( $H_2O$ ) : 767 nm

【0192】

#### 実施例 16

化合物 (6) K 塩 50 mg を少量の水に溶解後、イオン交換樹脂を通して、化合物 (6) K 塩のカリウムをプロトンに変換したものに、酢酸ナトリウムで飽和したメタノールを加え、結晶を得るという操作を 2 回繰り返した。生じた結晶を濾取し、少量のメタノールで洗浄後、乾燥して 32 mg の化合物 (6) を得た。得られた化合物 (6) の炎色反応を行ったところ黄色であった。

又、更に得られた化合物 (6) についてフーリエ変換赤外分光光度計 (VALOR-III / 日本分光 (株) 製) を用いて、赤外線吸収スペクトルの測定 (臭化カリウム錠剤法) を行ったところ、下記のピークが得られた。又、そのスペクトルを図 6 に示す。

IR ( $\nu_{max}$  (KBr)) : 1395、1372、1188、1102、1020  $cm^{-1}$

【0193】

#### 実験例 1

化合物 (29)、化合物 (43)、化合物 (45)、化合物 (31)、化合物 (3) K 塩、化合物 (11) [NK-3261 として日本感光色素から入手可能]、化合物 (6) K 塩、化合物 (2) K 塩、化合物 (4) K 塩および化合物 (34) について n-ブタノール/水の分配係数 ( $\log P_o/w$ ) を測定した。

対照の化合物としては、分子内のスルホン酸基が 2 個しかない NK-1967 (株式会社日本感光色素研究所) および ICG (東京化成工業株式会社) を用いた。結果を表 4 にまとめる。

【0194】

【表 4】

化合物	スルホン 酸基の数	$\log P_o/W$ (79.1- $\mu$ /水)
化合物 (29)	6	-2.00 以下
化合物 (43)	5	-2.00 以下
化合物 (45)	5	-2.00 以下
化合物 (31)	4	-2.00 以下
化合物 (3) K塩	4	-2.00 以下
化合物 (11) (NK-3261)	4	-2.00 以下
化合物 (6) K塩	4	-2.00 以下
化合物 (2) K塩	4	-2.00 以下
化合物 (4) K塩	4	-1.51
化合物 (34)	4	-1.49
NK-1967	2	0.34
ICG	2	1.41

【0195】

実験例 2 蛍光造影実験 (1)

マウス大腸癌 (colon 26 カルシノーマ) 由来の腫瘍組織片を BALB/c ヌードマウス (5 週齢、日本クレア) の左胸部皮下に移植し、10 日後、直径約 8 mm に腫瘍が成長したところで実験に使用した。



蛍光励起光源には、チタンサファイアレーザーを使用した。レーザー光をリング型ライトガイド（株式会社住田光学ガラス）を用いて、被検動物に均一に照射（照射のバラツキは10%以内）した。照射光出力は、被検動物の表面付近で約  $40 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  になるように調製した。蛍光は、各化合物の極大励起波長を用いて励起し、動物からの蛍光発光を、短波長カットフィルター（IR84、IR86、IR88、富士写真フイルム株式会社）を介してCCDカメラ（C4880、浜松ホトニクス株式会社）で検出、撮影した。カットフィルターは、使用した化合物の励起波長に合わせ選択した。また、露光時間は各化合物の蛍光強度に応じて調節した。

被検化合物として本発明に係わる化合物（29）、化合物（6）K塩、および対照化合物のスルホン酸基を2個しか有していないNK-1967およびICGを用いた。各被検化合物をそれぞれ蒸留水に溶解（0.5mg/ml）し、化合物（6）K塩、NK-1967およびICGは5.0mg/kg用量で、化合物（29）は0.5mg/kg用量でマウスの尾静脈から投与した。当該化合物投与24時間後にマウスをジエチルエーテルで麻酔し、マウス全身の蛍光画像を撮影した。結果を図1に示す。

#### 【0196】

ベンゾトリカルボシアニン構造を有し、スルホン酸基を6個有する化合物（29）およびトリカルボシアニン構造を有し、スルホン酸基を4個有する化合物（6）K塩は、スルホン酸基が2個の対照化合物（ベンゾトリカルボシアニン構造を有するものであるNK1967；トリカルボシアニン構造を有するものであるICG）に比べ明瞭に腫瘍部位を描出していた。特に化合物（29）は低用量でも腫瘍を明瞭に描出することができ、効果的であることが確認された。

#### 【0197】

#### 実験例3 蛍光造影実験（2）

実験動物にはヌードマウスを使用、セボフルレンによる維持吸入麻酔下にて本発明に係わる化合物（29）、および対照化合物のICGをそれぞれ5.0mg/kg用量でマウスに尾静注した。同時に間欠的に蛍光画像の撮影を開始した。蛍光画像撮影においては、レーザー・ビームによる励起光の照射とフィルターに

よる蛍光の抽出を行い、露光時間はすべて1秒間とした。化合物投与20秒後で、好適に血管を造影することができた。蛍光画像は投与後5分まで撮影した。当該化合物投与20秒後および5分後のマウス全身の蛍光画像を図2に示す。

【0198】

ICGは5分後には血管を描出することはできなくなっていたが、一方、化合物(29)はICGに比べ長時間にわたって血管を描出することができた。

【0199】

#### 実験例4 血管内貯留性

実験例2に準じてCDF<sub>1</sub> マウス(雌性、5週齢、日本SLC)に腫瘍組織片を移植し、約2週間後、直径約1cmに腫瘍が成長したところで実験に使用した。

被検化合物としては、ベンゾトリカルボシアニン構造を有し、スルホン酸基を6個有する化合物(29)K塩、化合物(41)K塩；トリカルボシアニン構造を有し、スルホン酸基を4～5個有する化合物(6)K塩、化合物(4)K塩、化合物(45)K塩、化合物(31)、化合物(31)K塩、化合物(3)K塩、化合物(2)K塩、化合物(43)K塩および化合物(11)；ならびに対照のICGおよびNK-1967を用いた。各被検化合物をそれぞれ蒸留水に溶解(0.5mg/ml)して用いた。得られた各化合物溶液を5.0mg/kg用量でマウスの尾静脈から投与し、当該化合物投与0.5、1、4、24時間後にマウスから血液を採取し、遠心分離により血漿を得た。

血漿中の蛍光強度を分光蛍光光度計(株式会社島津製作所製 RF-5300PC)を用いて測定した。各化合物に対してそれぞれ検量線を作成し、血漿中の化合物濃度を算出した。結果を図3に示す。

【0200】

本発明に関わる化合物は血漿中に高濃度、且つ長時間維持されていた。

【0201】

#### 実験例5 急性毒性

スルホン酸基の導入による毒性の低減、ならびにナトリウム塩とすることによる毒性の低減について検討した。

被検化合物としては表 5 に示したものを用了。

各種被検化合物を蒸留水に溶解して化合物溶液を調製し、当該溶液をマウスに覚醒下、尾静脈注射した。投与後 3 日間観察し、急性毒性〔LD<sub>50</sub> (mg/kg・体重)〕を算出した。

結果を表 5 に示す。

【0202】

【表 5】

スルホン酸 基の数	化合物	LD50 (mg/kg・体重)
3 個 以 上	化合物(11) K塩	350
	化合物(11)	1980
	化合物(31) K塩	350
	化合物(31)	>3550
	化合物(45) K塩	550
	化合物(45)	1100-1220
	化合物(43) K塩	300-350
	化合物(43)	1630
	化合物(41) K塩	470
	化合物(41)	>1010
	化合物(29) 塩	470
	化合物(29)	>1010
	化合物(6) K塩	350
	化合物(3) K塩	530
	化合物(4) K塩	450
	化合物(2) K塩	610
2 個 以下	ICG	70
	NK1967	20

【0203】

分子内のスルホン酸基の数を増やすことにより、またナトリウム塩にすることにより、急性毒性が顕著に低減した。

【0204】

【発明の効果】

本発明の近赤外蛍光造影剤は、励起光により励起され、近赤外蛍光を放出する

。当該近赤外蛍光は生体組織透過性に優れているので、生体内の深層部分の病変を検出することが可能となる。さらに当該造影剤は水溶性に優れ、低毒性であるため、安全に使用することができる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

化合物投与 24 時間後における蛍光造影像を示す生物の形態を示す写真である。

A: ICG (5 mg/kg)、B: NK-1967 (5 mg/kg)、C: 化合物 (29) (0.5 mg/kg)、D: 化合物 (6) K 塩 (5 mg/kg)

【図 2】

化合物投与 (5 mg/kg) 20 秒後および 5 分後における蛍光造影像を示す生物の形態を示す写真である。

A: ICG (20 秒後)、B: ICG (5 分後)、C: 化合物 (29) (20 秒後)、D: 化合物 (29) (5 分後)

【図 3】

化合物投与 0.5、1、4、24 時間後における血漿中の化合物の濃度を表すグラフである。縦軸は各経過時間での血漿中の化合物の濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) を示す。

【図 4】

化合物 (29) の赤外線吸収スペクトルを表すチャート図である。

【図 5】

化合物 (31) の赤外線吸収スペクトルを表すチャート図である。

【図 6】

化合物 (6) の赤外線吸収スペクトルを表すチャート図である。

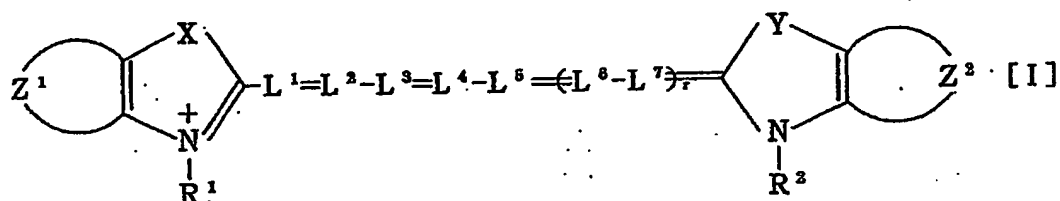
【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 生体組織透過性に優れた近赤外蛍光を放出し、且つ水溶性に優れ低毒性の蛍光造影剤の提供。当該蛍光造影剤を用いることによる蛍光造影方法の提供。

【解決手段】 一般式〔I〕

【化1】



(式中、各記号の定義は明細書中と同じ)

で表され、且つスルホン酸基を分子内に3個以上有する化合物、またはその医薬上許容しうる塩を含んでなる近赤外蛍光造影剤。

当該近赤外蛍光造影剤を生体内に導入し、前記生体を励起光照射し、前記造影剤からの近赤外蛍光を検出することによる体外蛍光造影方法。

【選択図】 なし

【書類名】

職権訂正データ

【訂正書類】

特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】

596048776

【住所又は居所】

大阪府大阪市淀川区西宮原2丁目6番64号

【氏名又は名称】

日本シエーリング株式会社

【特許出願人】

【識別番号】

000005201

【住所又は居所】

神奈川県南足柄市中沼210番地

【氏名又は名称】

富士写真フイルム株式会社

【代理人】

申請人

【識別番号】

100080791

【住所又は居所】

大阪府大阪市中央区平野町3丁目3番9号 (湯木ビル) 高島国際特許事務所

【氏名又は名称】

高島 一

【書類名】 手続補正書

【提出日】 平成10年11月19日

【あて先】 特許庁長官殿

【事件の表示】

【出願番号】 平成10年特許願第283301号

【補正をする者】

【事件との関係】 特許出願人

【識別番号】 596048776

【氏名又は名称】 日本シエーリング株式会社

【補正をする者】

【事件との関係】 特許出願人

【識別番号】 000005201

【氏名又は名称】 富士写真フイルム株式会社

【代理人】

【識別番号】 100080791

【弁理士】

【氏名又は名称】 高島 一

【電話番号】 06-227-1156

【手続補正 1】

【補正対象書類名】 特許願

【補正対象項目名】 提出物件の目録

【補正方法】 追加

【補正の内容】

【提出物件の目録】

【包括委任状番号】 9815439

【物件名】 委任状 1



29822400868



# 委任状

平成10年11月9日

私（私ども）は、

識別番号100080791 弁理士 高島 一 氏

を以て代理人として下記事項を委任します。

1. 特許出願（平成10年特許第283301号）  
に関する手続

1. 上記出願又は平成 年 願第 号に基づく特許法第41

条第1項又は実用新案法第8条第1項の規定による優先権の主張及びその取下

1. 上記出願に関する出願の変更、出願の放棄及び出願の取下げ

1. 上記出願に関する拒絶査定に対する審判の請求

1. 上記出願に関する補正の却下の決定に対する審判の請求

1. 上記出願に係る特許権、実用新案権、意匠権、商標権又は防護標章登録に  
基づく権利及びこれらに関する権利に関する手続並びにこれらの権利の放棄

1. 上記出願に係る特許に対する特許異議の申立て又は商標（防護標章）登録  
に対する登録異議の申立てに関する手続

1. 上記出願に係る特許、特許権の存続期間の延長登録、意匠登録、商標登録、  
防護標章登録又は商標（防護標章）更新登録に対する無効審判の請求に関す  
る手続

1. 上記出願に係る特許権に関する訂正の審判の請求

1. 上記出願に係る商標登録に対する取消しの審判の請求に関する手続

1. 上記各項の手続に関する請求の取下げ、申請の取下げ又は申立ての取下げ

1. 上記各項に関し行政不服審査法に基づく諸手続をなすこと

1. 上記各項の手続を処理するため、復代理人を選任及び解任すること

識別番号

000005201

郵便番号

250-0193

住所

神奈川県南足柄市中沼210番地

名称

富士写真フイルム株式会社

代表者

宗 雪 雅 幸



認定・付加情報

特許出願の番号	平成10年 特許願 第283301号
受付番号	29822400868
書類名	手続補正書
担当官	高田 良彦 2319
作成日	平成11年 3月 3日

<認定情報・付加情報>

【提出された物件の記事】

【提出物件名】	委任状（代理権を証明する書面）	1
---------	-----------------	---

【書類名】 出願人名義変更届

【整理番号】 A3745

【提出日】 平成11年 7月27日

【あて先】 特許庁長官殿

【事件の表示】

【出願番号】 平成10年特許願第283301号

【承継人】

【識別番号】 598127583

【氏名又は名称】 シエーリング アクチエンゲゼルシャフト

【承継人代理人】

【識別番号】 100080791

【弁理士】

【氏名又は名称】 高島 一

【電話番号】 06-6227-1156

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 006965

【納付金額】 4,600円

【提出物件の目録】

【物件名】 譲渡証書 1

【提出物件の特記事項】 手続補足書により提出する。

【物件名】 同意書 1

【提出物件の特記事項】 手続補足書により提出する。

【物件名】 委任状 1

【提出物件の特記事項】 手続補足書により提出する。

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [596048776]

1. 変更年月日 1996年 4月 9日

[変更理由] 新規登録

住 所 大阪府大阪市淀川区西宮原2丁目6番64号  
氏 名 日本シエーリング株式会社

特平 1 0 2 8 3 0 1 9 9 9

【書類名】

図面

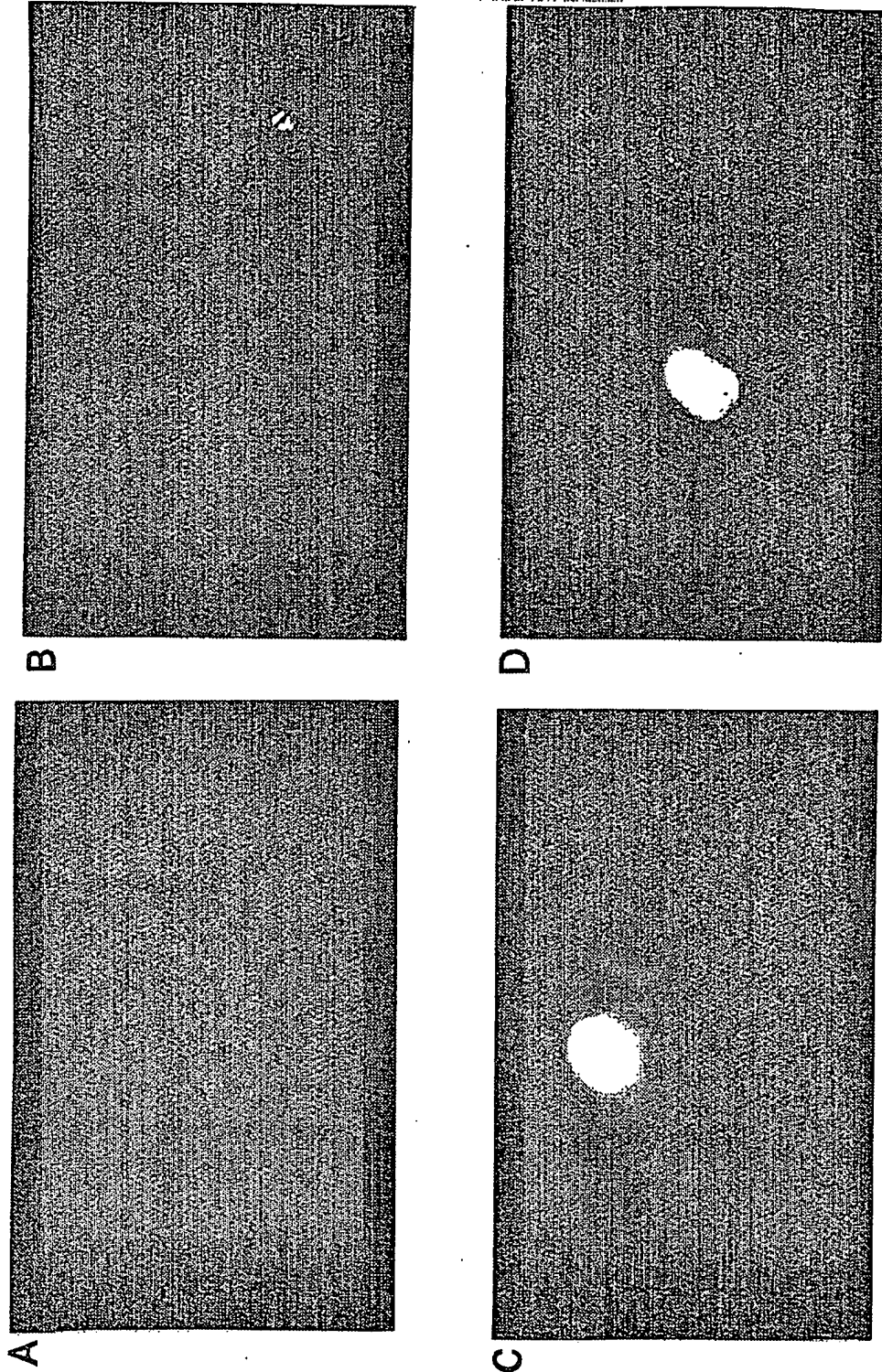
出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000005201]

1. 変更年月日 1990年 8月14日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 神奈川県南足柄市中沼210番地  
氏 名 富士写真フイルム株式会社

【図1】

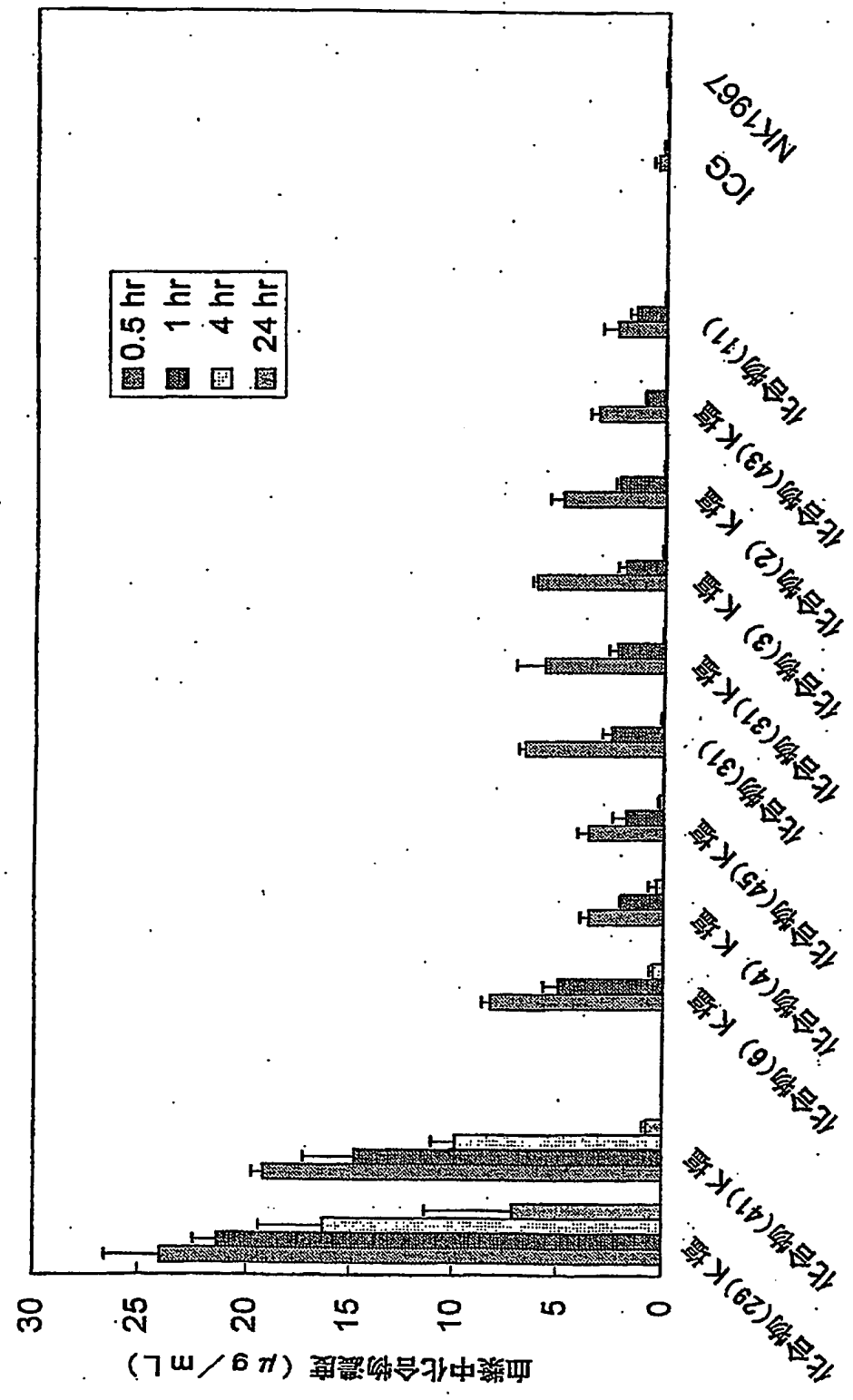
図面代用写真



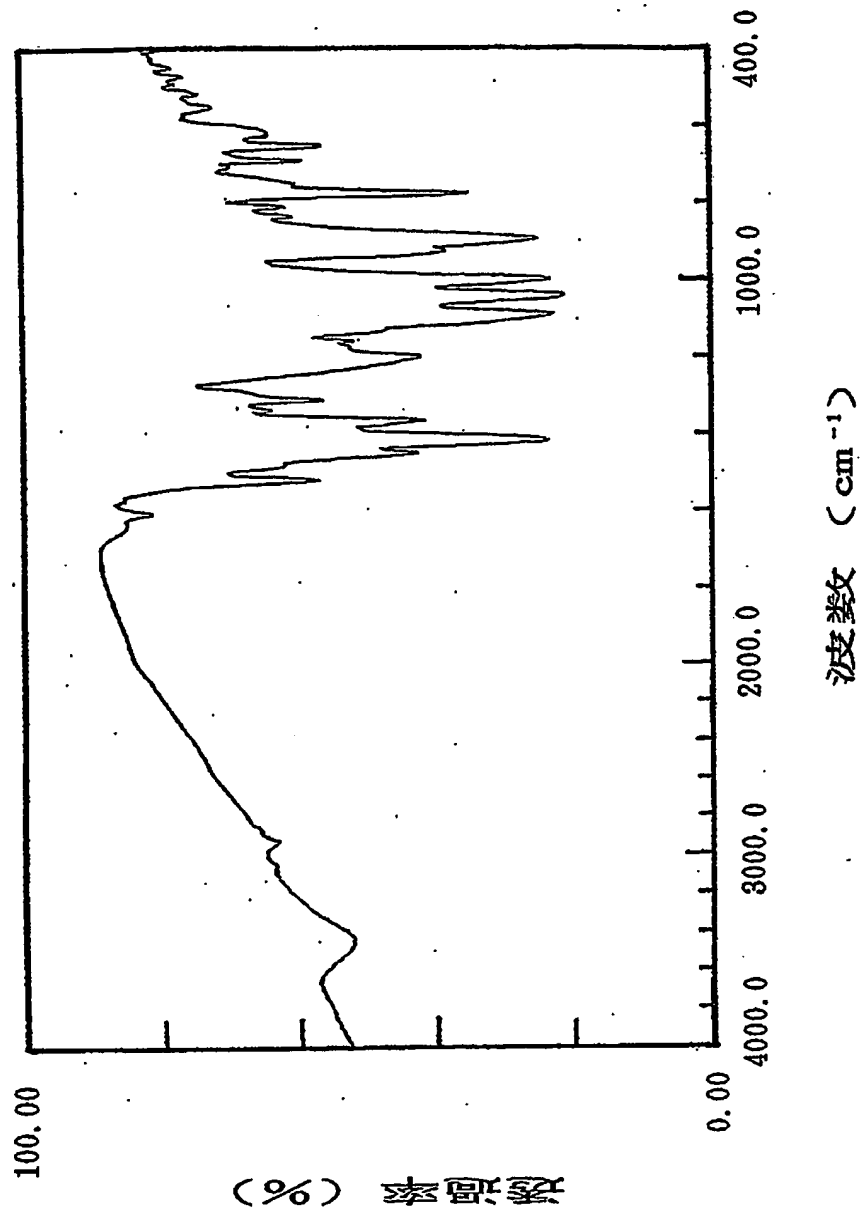




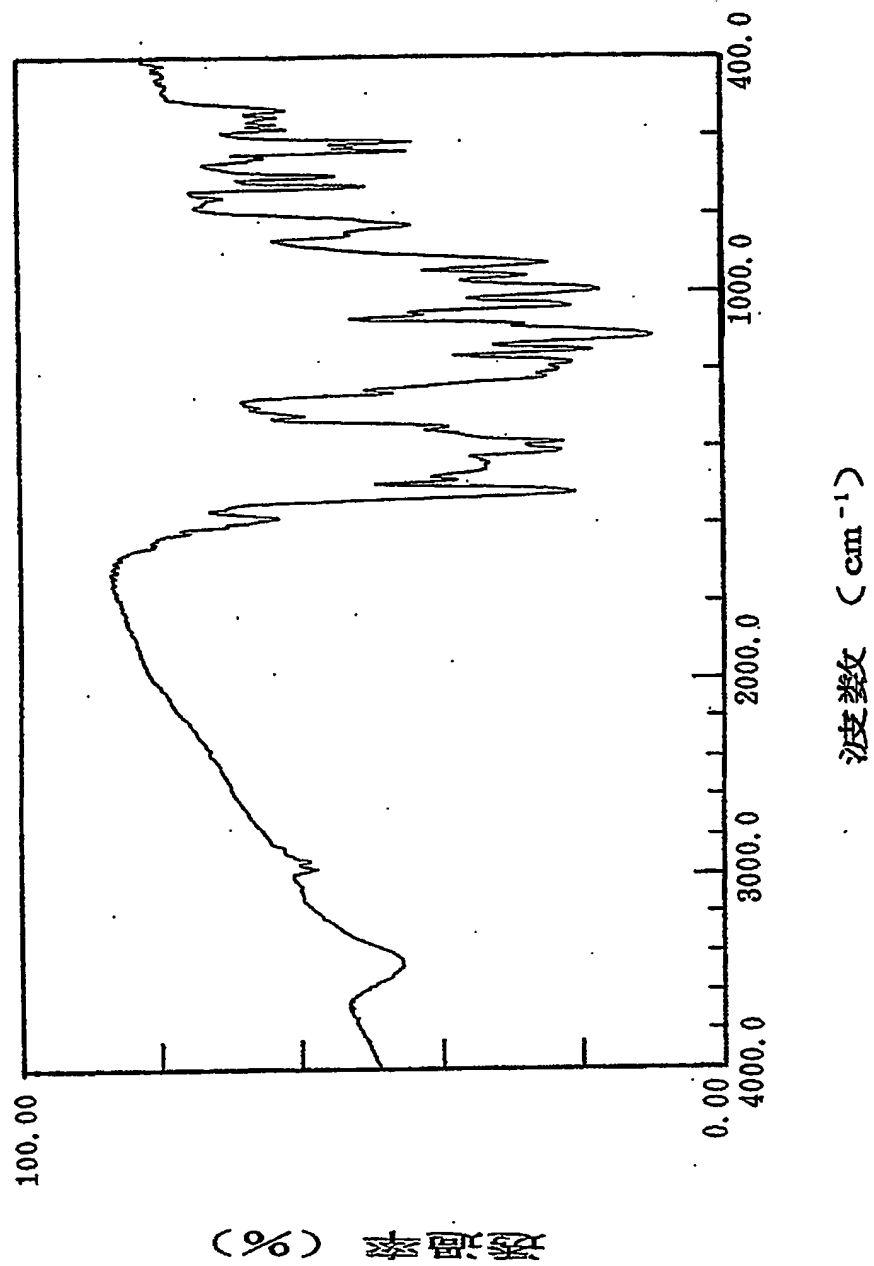
【図3】



【図4】



【図5】



【図6】

